

# PROTOPLASMA

UNTER BESONDERER MITWIRKUNG VON

**NOBURÔ KAMIYA**  
OSAKA

**SIEGFRIED STRUGGER**  
MÜNSTER

HERAUSGEGEBEN VON

**JOSEF SPEK**  
ROSTOCK

**FRIEDL WEBER**  
GRAZ

**KARL HÖFLER**  
WIEN

**BAND L, HEFT 4 (SCHLUSSHEFT)**  
MIT 85 TEXTABBILDUNGEN  
ABGESCHLOSSEN AM 5. FEBRUAR 1959



**WIEN**  
**SPRINGER-VERLAG**  
**1959**

Protoplasma

Die Zeitschrift

Protoplasma

erscheint zwanglos in einzeln berechneten Heften wechselnden Umfanges, die zu Bänden von 600 bis 650 Seiten vereinigt werden.

Die Zeitschrift veröffentlicht Originalarbeiten, kurze Mitteilungen, Sammelreferate und kritische Referate aus allen Teilen der Protoplasmaforschung. Die Abhandlungen, kurzen Mitteilungen, Sammelreferate und Referate können in den Sprachen der internationalen biologischen Kongresse verfaßt sein.

Manuskripte sowie alle auf die Redaktion bezüglichen Anfragen sind an

Prof. Dr. Fr. Weber, Pflanzenphysiologisches Institut, Graz, Schubertstraße 51, Österreich, oder

Prof. Dr. J. Speck, Zoologisches Institut, (3a) Rostock, Universitätsplatz, DDR, oder

Prof. Dr. K. Höfler, Pflanzenphysiologisches Institut, Wien I, Dr.-Karl-Lueger-Ring 1, Österreich

zu senden; alle geschäftlichen Mitteilungen an den

Springer-Verlag in Wien I, Mölkerbastei 5

Fernsprecher: 63 96 14 Serie — Telegrammadresse: Springerbuch Wien.

Die Manuskripte sollen mit der Maschine geschrieben sein. Den Abhandlungen ist eine Zusammenfassung beizufügen, die Literatur ist nicht in Form von Fußnoten, sondern am Ende der Arbeit in Listenform anzuführen.

Die Manuskripte sind vollständig druckreif und in fehlerfreier Sprache einzusenden, so daß bei der Korrektur nur Satzfehler verbessert zu werden brauchen. Überschreiten die Autorkorrekturen 10%, der Satzkosten, hat der Autor das Mehr zu tragen.

Die Vorlagen für die Abbildungen müssen vollkommen nachbildungsfähig abgeliefert werden. Die Abbildungen sind auf das unbedingt notwendige Maß zu beschränken. Farbige Abbildungen können nur auf Kosten des Autors angefertigt werden. Für die Reproduktion besonders reichen Illustrationsmaterials ist im Interesse der Besitzer der Zeitschrift ein Kostenbeitrag zu leisten.

Bedingung der Aufnahme von Arbeiten ist: möglichst kurze Fassung des Textes. Die Beiträge sollen im allgemeinen den Umfang von 1 1/2 Druckbogen (24 Seiten) nicht überschreiten.

„Vorläufige Mitteilungen“ und Auseinandersetzungen polemischen Inhalts werden nicht angenommen. Grundsätzlich werden nur Arbeiten aufgenommen, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind; der Autor verpflichtet sich, diese auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen. Mit der Annahme und Veröffentlichung des Manuskriptes geht das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder auf den Verlag über. Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme u. ä. von Heften der Zeitschrift, einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen. Die Autoren erhalten 100 Separata ihrer Arbeit kostenlos und können maximal weitere 100 Separata zum angemessenen Preis beziehen. Die Bestellung muß mit dem dem Fahnenabzug beigelegten Bestellzettel bei der Rücksendung der korrigierten Fahnen erfolgen.

Unkostenersatz wird nur für Sammelreferate geleistet.

Der Verlag

L. Band

Inhaltsverzeichnis

4. Heft

Abhandlungen

Seite

Kern, H.: Über das Vorkommen von Nucleinsäuren in isolierten Chloroplasten . .	505
Steinlesberger, Erna: Plasmolysestudien an Laubmoosen . . . . .	544
Diannelidis, T., und K. Höfler: Über die Elaioplasten der <i>Rotalga Laurencia obtusa</i> . . . . .	590
Strugger, S., und Hildegard Lindner: Untersuchungen zum Problem der Feinstruktur des Cytoplasmas der Wurzelmeristemzellen von <i>Allium cepa</i> . . . . .	607
Reisinger, E.: Anormogenetische und parasitogene Syncytienbildung bei Turbellarien . . . . .	627

Sammelreferat

Kinzel, H.: Biochemische Ergebnisse von pflanzenphysiologischer Bedeutung . . .	644
---	-----



# Über das Vorkommen von Nucleinsäuren in isolierten Chloroplasten<sup>1</sup>

Von

**Hartmut Kern**

Aus dem Botanischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster  
in Westfalen

Mit 17 Textabbildungen

(Eingegangen am 2. Mai 1958)

Nach dem heutigen Stand der Zellforschung muß der Protoplast im Sinne einer pangenetischen Fassung der Zellentheorie (Strugger 1953) als ein komplexes Gefüge von Duplikantensystemen aufgefaßt werden, und es ergibt sich die Forderung, den Zellkern, die Plastiden, Chondriosomen und Sphärosomen als solche Duplikantensysteme zu betrachten. Das System der Plastiden hat großes biologisches Interesse gefunden, wobei die Chloroplasten in bezug auf Funktion, Struktur und Entwicklung am besten untersucht sind. Ihre Ontogenese wurde insbesondere von Strugger (1950, 1951, 1953, 1954) und Strugger und Perner (1956) licht- und elektronenmikroskopisch studiert (vergl. auch Leyon 1954 und Mühlethaler 1955). Demnach entstehen die strukturell hochgeordneten Chloroplasten höherer Pflanzen durch spezifische Wachstumsprozesse (Plasmawuchs, identische Reduplikation) aus dem System der Proplastiden. Ihre erwiesene Teilungsfähigkeit im Zusammenhang mit ihrer genetischen Funktion (zusammenfassende Literatur bei Granick 1955) spricht dafür, daß die Plastiden in Analogie zu Zellkernen und Viren Träger von Nucleinsäuren sind.

Für die experimentelle Bestätigung dieser Forderung lassen sich cytochemische Methoden in der Zelle anwenden. Solche Untersuchungen wurden von Chiba (1951) und Meizner (1952a und b) an Chloroplasten und von Spiekermann (1957) an Proplastiden durchgeführt. Diese Autoren finden beide Nucleinsäuretypen — Desoxyribonucleinsäure (DNS) und Ribonucleinsäure (RNS) — in den Chloroplasten bzw. in den Proplastiden.

<sup>1</sup> Auszug aus einer Dissertationsarbeit (Münster 1956).

Da Nucleinsäuren (NS) ein charakteristisches Absorptionsmaximum bei 2600 Å haben, kann man das Absorptionsvermögen der Chloroplasten für ultraviolettes Licht (UV) als Hinweis für vorhandene NS werten (Menke 1940, Rabinowitch 1945, Frey-Wyssling, Ruch und Berger 1955).

Neben diesen Nachweismöglichkeiten der NS *in situ* hat sich eine völlig andersartige Methode zur Klärung biochemischer Fragen als brauchbar erwiesen. Es handelt sich hierbei um die chemische Analyse der betreffenden Zellorganellen, die durch Differentialzentrifugation aus homogenisiertem Gewebe präparativ gewonnen werden. Unter Anwendung dieses Prinzips — es wurde erstmalig von Menke (1938, 1939) und Granick (1938) auf Blattmaterial angewandt — bei besonderer Berücksichtigung des NS-Nachweises in isolierten Chloroplasten liegen Untersuchungen von Menke (1939), McClendon (1952), Jagendorf und Wildman (1954) sowie von Sisakjan und Cernjak (1952), Sisakjan und Odjinzowa (1955, vergl. auch Sisakjan 1956) vor. Die Ergebnisse aller Autoren sprechen für das Vorkommen von RNS in den isolierten Chloroplasten, wogegen hinsichtlich des DNS-Gehaltes unterschiedliche Auffassungen vertreten werden. Es war daher die Aufgabe der vorliegenden Arbeit, einen Beitrag zur Klärung dieser Frage zu liefern.

### Probleme und Vorarbeiten

Es muß grundsätzlich betont werden, daß biochemische Untersuchungen an isolierten Zellorganellen zunächst nur die jeweilige Methode charakterisieren und nicht ohne weiteres einen Rückschluß auf intrazelluläre Verhältnisse erlauben. Auch dann, wenn man mit Chloroplastenfraktionen arbeitet, die vollkommen frei sind von Verunreinigungen, muß man sekundäre, durch die Homogenisation bedingte Veränderungen berücksichtigen. Durch die Zerstörung des Protoplasten bei der Homogenisation werden schwer überschaubare Verhältnisse geschaffen. Fermentative Prozesse können ungeordnet und daher in unerwarteter Weise ablaufen; es kann zu Reaktionen zwischen den Organellen und dieser mit dem Homogenisationsmedium kommen, die zu erheblichen chemischen und physikalischen Veränderungen führen. Adsorptionen fremder Stoffe an einzelne Organellen, Permeabilitätsänderungen, die dazu führen, daß Substanzen an das Medium abgegeben werden oder gelöste Stoffe in die betreffenden Partikeln einwandern, sind denkbar. Wenngleich man alle Arbeitsgänge der Isolation bei ca. 0°C durchführt, um dadurch enzymatische Prozesse zu verlangsamen, so werden sich trotzdem nicht alle erwähnten sekundären Veränderungen im Homogenat gänzlich ausschalten lassen. Andererseits ist es aber auch schwierig, verlässliche Aussagen über das Ausmaß und die Art der tatsächlich ablaufenden Vorgänge zu machen. Hinzu kommt noch, daß es nicht immer möglich ist, durch Differentialzentrifugation allein eine vollkommene Trennung der Zellorganellen von unerwünschten Beimengungen zu erreichen.

Sollen isolierte Chloroplasten auf ihren Gehalt an NS untersucht werden, dann muß Gewähr dafür gegeben sein, daß den betreffenden Präparaten keine andersartigen NS-haltigen Partikeln — besonders Reste von Zellkernen — beigegeben sind. Bei der Homogenisation werden die Zellkerne z. T. zerstört; dabei entstehen im Extremfall lang ausgezogene, fadenförmige Gebilde, sogenannte „threads“ (Weier und Stocking 1952 b), die wegen ihrer größeren Schwebefähigkeit ein ähnliches Sedimentationsverhalten wie die Chloroplasten haben. McClendon (1952) kam auf Grund seiner Befunde, wonach in seinen Chloroplastenfraktionen auch dann DNS nachweisbar war, wenn nur sehr geringe Mengen kompakter Zellkerne mikroskopisch sichtbar waren, zu der Auffassung, daß DNS „presumably adsorbed onto the chloroplasts“ sei. Durch methodische Verbesserungen gelangten Jagendorf und Wildman (1954) zu Chloroplastenpräparaten, in denen sie nur geringe Mengen an NS nachweisen konnten. Diese Autoren lassen die Frage offen, ob der geringe NS-Gehalt grundsätzlich auf nichtplastidische Verunreinigungen oder auf eine Auswaschung von primär in den Plastiden vorhandener NS zurückzuführen sei. Somit stehen sich zwei einander widersprechende Auffassungen gegenüber. Abgesehen davon, daß die Ansicht McClendons durch cytochemische Analysen von Weier und Stocking (1952 b) widerlegt wurde, ist es notwendig, weitere Untersuchungen durchzuführen, um Aussagen über das Vorkommen von NS in isolierten Chloroplasten machen zu können.

Da die beabsichtigten chemischen Analysen an isolierten Chloroplasten Rückschlüsse auf die in der intakten Zelle vorliegenden Verhältnisse ermöglichen sollen, muß neben der Forderung nach sauberen Plastidenfraktionen auch Wert darauf gelegt werden, die Plastiden in einem Zustand zu isolieren, der dem in der Zelle nahekommt. Es ist nämlich nicht zu erwarten, daß die im Homogenat suspendierten Chloroplasten die gleichen physikochemischen Eigenschaften aufweisen wie in der Zelle. Da strukturelle Veränderungen Indikatoren für tiefgreifende physikalische und chemische Vorgänge sein können, mußten Bedingungen geschaffen werden, bei denen sich die Chloroplasten möglichst wenig verändern. Einer Verwirklichung beider Anforderungen stehen aber methodisch bedingte Schwierigkeiten entgegen; deshalb waren Vorarbeiten notwendig, die sich naturgemäß in cytomorphologische und biochemische Untersuchungen gliederten, um schließlich zu einem Kompromiß zwischen beiden Gesichtspunkten zu gelangen. Diese Untersuchungen konnten sich — soweit sie für den Isolationsvorgang wichtig erschienen — auf Chloroplasten und Zellkerne beschränken, da Chondriosomen und Sphärosomen erst bei hochtourigen Zentrifugationen sedimentieren.

Die größten Bedenken vom cytologischen Standpunkt aus muß man gegen die Homogenisation, d. h. die mechanische Zerstörung der Zellen, haben. Menke (1939) benutzte zur Zerkleinerung der Blätter eine Dreiwalzenmühle. Der aus dem Blattbrei gewonnene Presssaft wurde dann fraktioniert zentrifugiert. Granick (1958) empfiehlt eine Homogenisation durch Zerreiben der Blätter mit Quarzsand im Mörser bei Gegenwart von Zuckerlösung als Medium. Dabei sollen die Zellkerne weitgehend

unbeschädigt bleiben. Eine weitere Art der Zerkleinerung besteht in der Anwendung eines Homogenisators. Hierbei wird das Blattmaterial durch rotierende Messer aufgeschlossen und im zugegebenen Medium (Zuckerlösung) suspendiert. McCleendon (1952) sowie Jagendorf und Wildman (1954) bedienten sich dieser Homogenisationsart. Nach Ansicht von Weier und Stocking (1952 b) ist dieses Verfahren dafür verantwortlich, daß zahlreiche Zellkerne zu den schlecht sedimentierenden „threads“ deformiert werden. Jagendorf und Wildman (1954) verglichen das Sedimentationsverhalten von Zellkernen und Chloroplasten in Homogenaten, die durch Zerreiben im Mörtel bzw. durch Anwendung eines Homogenisators hergestellt wurden. Im ersten Falle sedimentierten die Zellkerne relativ einheitlich, während die Chloroplasten bis zu 50% zerstört wurden und deshalb eine uneinheitliche Sedimentation zeigten. Umgekehrt lagen die Verhältnisse im zweiten Falle: die Chloroplasten hatten eine einheitliche, die Zellkerne dagegen eine schleppende Sedimentation: die Chloroplasten blieben weitgehend unbeschädigt, wogegen die Zellkerne die bekannte Fadenform annahmen. Es ist also offenkundig, daß Chloroplasten und Zellkerne auf die beiden Homogenisationsarten unterschiedlich reagieren. Keine dieser Methoden kann voll befriedigen; in keinem Falle sind einwandfreie Trennungen durch Zentrifugation zu erwarten. Bei einer Verwendung von Preßsäften (Menke 1939, Sisakjan und Cernjak 1952) ist — ungeachtet des Erhaltungszustandes der Zellorganellen — durch die Einwirkung des unverdünnten Zellsaftes die Gefahr zu weiteren Komplikationen gegeben. Wird dagegen im Mörtel oder im Homogenisator zerkleinert, so kann man zwar in großer Verdünnung arbeiten und dadurch den Wirkungsgrad des Zellsaftes herabsetzen, dafür bleiben aber die beschriebenen Verhaltensweisen der Chloroplasten und Zellkerne bestehen. Wenn bei den vorliegenden Untersuchungen ein Homogenisator benutzt wurde, so geschah dies mit Rücksicht auf den Erhaltungszustand der Chloroplasten und der kürzeren Dauer der Homogenisation.

## I. Cytomorphologische Untersuchungen an Homogenaten

### 1. Erhaltungszustand der Chloroplasten

Für orientierende Untersuchungen wurden Blätter von *Viola tricolor* (L.) var. *maxima* hort. und *Cichorium endivia* (L.) verwandt. Zunächst wurde von der Blattunterseite mit einer Lanzettadel etwas Mesophyllgewebe abgeschabt und in einen Tropfen Glucoselösung auf dem Objektträger übergeführt. Die Glucoselösung wurde aus später zu besprechenden Gründen 0,4 molar in Leitungswasser angesetzt. An den suspendierten Chloroplasten — soweit sie nicht mechanisch geschädigt waren — ließ sich immer ein stärkeres Hervortreten der Grana beobachten, eine Erscheinung, die man auch an Chloroplasten in vitalen Zellen beobachten kann.

Einen wesentlichen Einfluß auf den Erhaltungszustand der Chloroplasten hat das jeweils benutzte Homogenisationsmedium. Bereits Schwarz (1887) fand, daß in Zuckerlösungen suspendierte Chloroplasten ein cytomorphologisch befriedigendes Aussehen beibehalten. Allgemein

werden in der Literatur wäßrige (Weier und Stocking 1952a) und gepufferte (McClendon 1952, Jagendorf und Wildman 1954) Lösungen von Kohlehydraten angegeben. Mitunter arbeitet man auch mit reinen Pufferlösungen (Menke 1939). In den folgenden Untersuchungen wurde der Einfluß der Glucosekonzentration auf suspendierte Chloroplasten von *Viola tricolor* analysiert; die Lösungen wurden hierbei 0,2 bis 0,7 molar in Leitungswasser angesetzt. Schabt man von der Blattunterseite etwas Mesophyllgewebe ab, bringt es in einem Tropfen Glucoselösung auf dem Objektträger unter das Mikroskop, so sind unterschiedliche Vakuolisationsformen der suspendierten Chloroplasten die auffälligste Erscheinung (vgl. Mudrack 1956). Es wird angenommen, daß die Chloroplasten von einer semipermeablen Membran umgeben sind und somit ein osmotisch beeinflussbares System darstellen (Granick 1938, Weier und Stocking 1952a, Jagendorf und Wildman 1954, Mudrack 1956). Demnach wird die Glucosekonzentration des Mediums den Vakuolisationsgrad der Chloroplasten maßgeblich beeinflussen. Eine direkte Beziehung zwischen beiden Größen wurde z. B. von Mudrack (1956) festgestellt. Es muß aber betont werden, daß nicht alle im gleichen Medium vorhandenen Chloroplasten auch den gleichen Ausbildungsgrad der Vakuolen zeigen, sondern bei Berücksichtigung einer Variationsbreite läßt sich lediglich ein vorherrschender Vakuolisationsstyp feststellen. Deshalb können Aussagen über den vorherrschenden Vakuolisationsgrad bei der Homogenisation größerer Blattmengen nur statistisch gemacht werden.

**Methode:** Frische *Viola*-Blätter wurden in Anteilen von ca. 5 g mit je 25 ml kalter, in Leitungswasser angesetzter Glucoselösung homogenisiert (30 Sekunden in einem Homogenisator, Fa. Bühler, Modell „Ceka“, Typ UM). Die Suspension wurde durch ein Leinentuch geseiht und filtriert (Papierfilter Schleicher und Schüll 520 b) und anschließend 10 Minuten bei 475 g und 0 bis 5°C in einer Winkelzentrifuge (Phywe „Eispirouette“) zentrifugiert. Die Sedimente wurden mit je 1 ml der entsprechenden Glucoselösung aufgenommen. Auf diese Weise wurden nacheinander sieben Homogenate in den Glucosekonzentrationen von 0,1 bis 0,7 molar angefertigt. Von jeder Konzentrationsstufe wurden je zehn Proben entnommen, auf Objektträger gebracht und je Probe 50 Chloroplasten nach ihrem Vakuolisationsgrad beurteilt. Hierbei wurden folgende Typen unterschieden:

- a) „hypotonische“ Formen: Profilsicht linsen- bis spindelförmig mit einseitig abgehobener Vakuole, Flächenansicht rund.
- b) „isotonische“ Formen: Profilsicht linsen- bis spindelförmig, Flächenansicht rund, und
- c) „hypertonische“ Formen: napfförmig gekrümmter Plastidenkörper mit noch erhaltener — „Chlorella-Stadium“ (Mudrack 1956) — oder bereits zerstörter Membran — sogenannter Näpfchenform.

Schwierigkeiten bereitete die Auszählung der labilen, extrem „hypotonischen“ Formen. Mitunter ließ sich das Platzen der Plastidenvakuolen beobachten. Bereits geplatze Formen unterschieden sich von den „isotonischen“ durch unregelmäßige Konturen, die durch Verquellen des Restkörpers bedingt sein dürften. Es wurde daher angenommen, daß in 0,2 molarer Glucoselösung fast alle Plastiden „hypotonischen“ Charakter haben. In der graphischen Darstellung der Auszählungen von 10 × 50 Plastiden pro Kon-



zentrationsstufe sind auf der Abszisse die Glucosekonzentrationen und auf der Ordinate die Prozentsätze an Chloroplasten des Typus b aufgetragen (Abb. 1). Unter der Abszisse sind die Vakuolisierungstendenzen schematisch

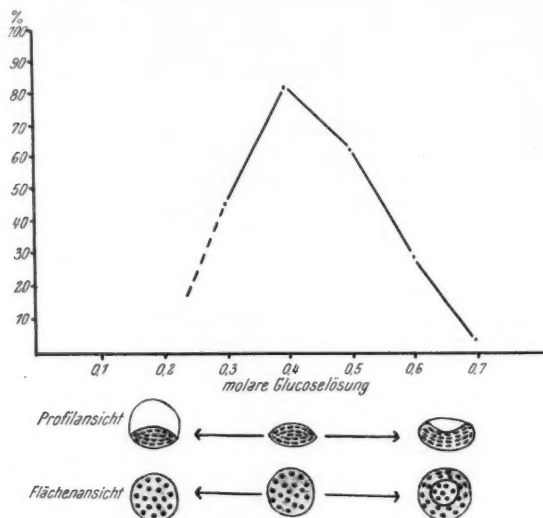


Abb. 1. Graphische Darstellung der Beziehungen zwischen Glucosekonzentration und Vakuolisierung der Plastiden.

wiedergegeben. In 0,4 molarer Glucose wurden 83,2% normaler, d. h. „isotonischer“ Plastidenformen, ausgezählt; der Rest von 16,8% wies vornehm-



Abb. 2

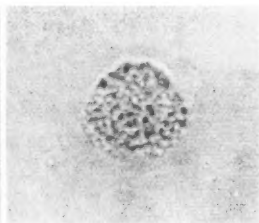


Abb. 3

Abb. 2. Chloroplast im frisch angefertigten Homogenat.

Abb. 3. Derselbe Chloroplast nach 15 Minuten.

lich Formen des Typs c auf. Aus der Tatsache, daß „isotonische“ Chloroplasten im mikroskopischen Bild die geringsten Veränderungen erkennen lassen, schien die 0,4 molare Glucoselösung — ein Medium mit dem Maximum dieser Plastidenformen — als Isolationsflüssigkeit geeignet zu sein.

Auch für die Chloroplasten von *Cichorium endivia* erwies sich dieses Medium als optimal.

Bei der Isolation von Chloroplasten muß als weiterer Faktor der bei der Zerstörung des Protoplasten frei werdende Zellsaft berücksichtigt werden. Um seinen Einfluß auf suspendierte Plastiden zu beobachten, wurde wieder etwas Mesophyllgewebe von *Viola*-Blättern abgeschabt und in 0,4 molarer Glucose in Leitungswasser suspendiert; hierbei wurde absichtlich für eine stärkere Beimengung von Preßsaft gesorgt. In Abb. 2 wird ein Chloroplast kurz nach der Homogenisation gezeigt. Er läßt keine Veränderungen erkennen, die wesentlich vom gewohnten Aspekt der Chloroplasten in der Zelle abweichen. Nach 5 Minuten setzte eine starke Granulierung ein. Die offensichtlich von Entmischungen begleiteten Veränderungen führten schließlich dazu, daß der Chloroplast in der Flächenansicht ein runzeliges Aussehen und in der Profilstellung Streifenbildung aufwies (Abb. 3). Diese morphologischen Veränderungen ließen sich erheblich verlangsamen und in ihrem Ausmaß einschränken, wenn die Beimengungen an Zellsaft gering gehalten wurden. Für die praktische Isolation der Chloroplasten ergibt sich somit die Notwendigkeit, in möglichst großen Verdünnungen zu arbeiten, um die schädlichen Einflüsse des Zellsaftes zu hemmen.

Für die bisherigen Untersuchungen wurden wäßrige, mit Leitungswasser angesetzte Glucoselösungen benutzt. Dieser Schritt schien beim Vergleich

mit andersartigen Glucoselösungen berechtigt zu sein. Bei Verwendung von 0,4 molarer Glucose in dest. Wasser zeigten die Chloroplasten zwar auch ein isotones Aussehen, dafür ließen sich aber häufig myelinartige Auswüchse an den Plastiden beobachten (Abb. 4). Daß diese Gebilde sich von denjenigen unterscheiden, die bei verschiedener Glucosekonzentration auftreten, ergibt sich schon aus ihrer Gestalt. Sie sind meist länglich und sitzen dem Plastid mit ihrer Schmalseite an. Zuweilen lassen sie eine deutliche Schichtung erkennen. Im Gegensatz zu den nicht fluoreszierenden Vakuolen „hypotonischer“ Chloroplasten zeigten die myelinartigen Blasen eine diffuse Rotfluoreszenz. Mit dem zur Verfügung stehenden Polarisationsmikroskop (Leitz; Okular 11,5  $\times$ ; Pl/12 Obj. Öl A = 1,3; 100 : 1) konnte jedoch keine Doppelbrechung beobachtet werden.

Auch bei einer Pufferung der mit dest. Wasser hergestellten Glucoselösung mit 1/100 molarem Phosphatpuffer auf den pH-Wert 6,8–7,0 traten diese myelinartigen Gebilde in gleicher Häufigkeit auf. Die Tatsache, daß

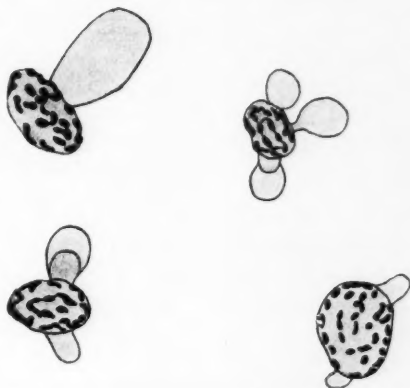


Abb. 4. Chloroplasten mit myelinartigen Auswüchsen.

in den mit Leitungswasser angesetzten Glucoselösungen solche Bildungen sehr selten auftraten, legt die Vermutung nahe, daß die hemmende Wirkung dem Leitungswasser selbst zuzuschreiben ist. Insbesondere der Gehalt an Ca-Salzen könnte hierfür verantwortlich gemacht werden. Das benutzte Leitungswasser enthielt nach einer Durchschnittsanalyse 612 mg Abdampfungsrückstand pro Liter, davon 108 mg Ca und 12 mg Mg. Wurden „isotonische“ Chloroplasten von *Viola* oder *Cichorium* in 0,4 molarer Glucose in Leitungswasser schnell abzentrifugiert und dann in gepufferter oder ungepufferter reiner 0,4 molarer Glucoselösung wieder aufgenommen, so traten keine myelinartigen Auswüchse mehr auf. Der kurze Aufenthalt im Ca-haltigen Leitungswasser reicht offensichtlich aus, um auch in einem Ca-freien Medium diese Bildungen zu unterdrücken.

## 2. Erhaltungszustand der Zellkerne

Nachdem in der oben beschriebenen Glucoselösung ein Medium gefunden wurde, in dem die Chloroplasten ein cytomorphologisch befriedigendes Aussehen haben, mußte auch der Erhaltungszustand isolierter Zellkerne berücksichtigt werden. Unter den für die Isolation der Chloroplasten gewählten Homogenisationsbedingungen werden zahlreiche Kerne mechanisch zerstört. Kompakt bleibende Zellkerne lassen sich durch Zentrifugation von den Plastiden besser abtrennen als Kernfragmente (vgl. Weier und Stocking 1952). Daher können an den Erhaltungszustand der Kerne keine cytomorphologischen Maßstäbe angelegt werden, sondern es wird vor allem darauf ankommen, die Kernbruchstücke zu identifizieren. Nur so wird es möglich sein, den Reinheitsgrad von Plastidenfraktionen, d. h. den Gehalt an Kernmaterial, festzustellen. Im Folgenden wurden Homogenate unter denselben Bedingungen hergestellt wie in den Hauptuntersuchungen, um so die verschiedenen Kernfragmente kennenzulernen.

Blätter von *Viola* bzw. *Cichorium* wurden in 0,4 molarer, kalter Glucoselösung in Leitungswasser im „Starmix“ 30 Sekunden bei der Geschwindigkeitsstufe II zerkleinert; das Homogenat wurde durch ein Leinentuch geseiht und anschließend 10 Minuten bei 475 g (ca. 2000 UpM) in der Winkelzentrifuge (s. u.) sedimentiert. Zur Identifizierung der Kernsubstanzen wurden cytochemische Reaktionen bzw. Färbungen an Ausstrichen nach Osmiumräucherung (2 Minuten) angewandt: Für die Feulgen-Reaktion wurden die Ausstriche 20 Minuten in 1 N HCl bei 60°C im Thermostaten hydrolysiert, anschließend 2 Stunden in fuchsin-schwefliger Säure (Romeis 1948) aufbewahrt und dann 30 Minuten im mehrfach gewechselten SO<sub>2</sub>-haltigen Spülwasser vom überschüssigen Reagens befreit. Während der Beobachtung waren die Präparate in frischem Spülwasser eingebettet. — Zur schnellen Orientierung wurden die Ausstriche mit einer 1%igen, schwach essigsauren Lösung von Toluidinblau angefärbt (Weier und Stocking 1952 b). — Außerdem bewährte sich die Kernfärbung mit Karminessigsäure (Romeis 1948). Hierbei wurde ein Tropfen des Homogenates mit etwas Karminessigsäure auf dem Objektträger vermischt und kurz über einer Mikroflamme erwärmt.

In den Abb. 5–8 sind die oft beobachteten deformierten Zellkerne bzw. deren Fragmente nach erfolgter Homogenisation wiedergegeben.

### Chemische Beurteilung des Homogenisationsmediums

Wurden bisher nur cytomorphologische Veränderungen an den interessierenden Zellorganellen lichtmikroskopisch erfaßt, so mußten auch Untersuchungen unter chemischen Gesichtspunkten angestellt werden. Die Tatsache, daß bei der Homogenisation des Blattgewebes zahlreiche Zellkerne zerstört werden, führt zwangsläufig zur Berücksichtigung sekundärer Vorgänge im Homogenat. Im Medium gelöste Nucleinsäuren bzw. Nucleoproteide mußten berücksichtigt werden, zumal bekannt ist, daß sich NS mit

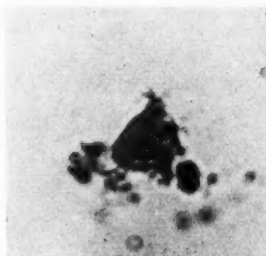


Abb. 5



Abb. 6



Abb. 7



Abb. 8

Abb. 5. Zellkern mit beginnender Deformation (Toluidinblau).

Abb. 6. Zellkern z. T. fadenförmig ausgezogen (Feulgenfärbung).

Abb. 7. Nucleolus mit Zellkernresten (Toluidinblau).

Abb. 8. Fadenform eines zerstörten Zellkerns, sog. „thread“ (Toluidinblau).

Proteinen zu künstlichen Proteiden verbinden können (u. a. Belozersky 1936, Ohlmeyer 1949) und z. B. McClelland (1952) eine Adsorption von DNS an Chloroplasten angenommen hat.

Für die Verwendung einer 0,4 molaren Glucoselösung in Leitungswasser als Medium sprechen zunächst die hierin auf ein Minimum beschränkten morphologischen Veränderungen der Chloroplasten. Der Gehalt des Leitungswassers an  $\text{Ca}^{++}$ - und  $\text{Mg}^{++}$ -Ionen berechtigt zu der Annahme, daß die entquellende und NS-fällende Wirkung dieser Ionen (Huiskamp 1901) eine Auswaschung von NS-Substanzen aus den Zellkernen bzw. den Kernfragmenten verhindert oder zumindestens einschränkt. Damit würde auch die Gefahr einer sekundären Adsorption dieser gelösten Stoffe an die

Plastiden sinken. Außerdem läßt die verfestigende Wirkung dieser Ionen auf die Plastiden erwarten, daß eine Auswaschung von primär in den Chloroplasten vorhandener NS (vgl. J a g e n d o r f und W i l d m a n 1954) ebenfalls herabgesetzt wird. Wenngleich — wie später gezeigt wird — durch Zusatz eines Adsorptionsmittels (Aktivkohle) Anlagerungen von gelösten NS-Substanzen an die Plastiden unterbunden werden sollen und außerdem die Verwendung eines Alkaloids zur Erzielung einer impermeablen Plastidenmembran beabsichtigt war, sollte von vornherein eine durch das Homogenisationsmedium bedingte erhöhte Extraktion von NS-Stoffen möglichst verhindert werden. Um Hinweise für das Extraktionsvermögen solcher Stoffe durch verschiedene Medien zu gewinnen, wurde folgender Weg eingeschlagen.

#### Methode:

Endivienblätter wurden in der üblichen Weise im „Starmix“ in 0,4 molarer Glucose (Leitungswasser) zerkleinert. Von diesem nur über Glaswolle gefilterten und bewußt keiner weiteren Reinigung unterzogenen Homogenat wurden nach gründlicher Durchmischung aliquote Anteile in Zentrifugengläser pipettiert und 15 Minuten bei 475 g in der Winkelzentrifuge niedergeschlagen. Die einzelnen Sedimente wurden nochmals kurz mit der Glucoselösung nachgewaschen und wieder abzentrifugiert. Dann wurden die Sedimente in gleichen Volumina der einzelnen zu prüfenden Medien aufgenommen und unter öfterem Schütteln 30 Minuten in Eiswasser aufbewahrt. Nach dieser Inkubation wurde bei 10.000 g abzentrifugiert. Um vergleichbare Aussagen über das Ausmaß etwaiger Extraktionen von NS-Substanzen machen zu können, wurde die spektroskopische Methode angewandt. NS-Substanzen zeichnen sich durch die Absorption ultraviolett Lichtes im Bereich um 2600 Å aus; wenn also unterschiedliche Absorptionen in diesem Spektralbereich feststellbar wären, so könnten sie mit der gebotenen Vorsicht als ein Maß für gelöste NS oder deren Derivate gewertet werden. Die UV-Absorptionen der einzelnen überstehenden Flüssigkeiten wurden mit Hilfe des Spektrographen Qu 24 (Zeiss) unter gleichen Bedingungen der Belichtung und Schichtdicke aufgenommen. Als Vergleichslösung diente in den einzelnen Fällen die entsprechende reine Lösung. Die Registrierkurven der geschwärzten photographischen Platten wurden mit einem automatischen Mikrophotometer (Kipp und Zonen, Delft/Holland) aufgenommen (Verfahren s. u.). Die Fläche zwischen dem Kurvenzug der überstehenden Flüssigkeit und der entsprechenden Vergleichslösung wurde in dem Spektralbereich von 2500 bis 2800 Å planimetriert. Die so von den einzelnen Flüssigkeiten erhaltenen Flächenwerte wurden prozentual zueinander in Beziehung gesetzt. Die 100%-Stufe wurde dabei dem Extraktionsvermögen einer 1 molaren NaCl-Lösung zugesprochen. Dies ist insofern berechtigt, als 1 molare Kochsalzlösung zur Extraktion von Nucleoproteiden benutzt wird (u. a. M i r s k y und P o l l i s t e r 1946).

Die Ergebnisse sind in folgender Übersicht zusammengestellt:

Medium	Flächenprozent, bez. auf 1 molares NaCl = 100%
1. 1 molares NaCl	100
2. dest. Wasser	95,3
3. 0,4 molare Glucose in dest. Wasser	52,1
4. 0,4 molare Glucose in Leitungswasser	34,7



Somit erwies sich auch hierbei die mit Leitungswasser angesetzte Glucoselösung als ein Medium, das — im Vergleich zu den anderen — die geringste Extraktion von NS-Substanzen verursacht. Wenngleich sich diese Ergebnisse gut mit den cytomorphologischen Befunden in Einklang bringen lassen, müssen auch die Einschränkungen der angewandten spektroskopischen Methode beachtet werden, da es sich bei den Registrierkurven nicht um typische NS-Kurven handelt. In dem Spektralbereich um 2600 Å absorbierende Substanzen können bestenfalls als NS-verdächtig angesprochen werden. Da die Registrierkurven der einzelnen Flüssigkeiten nur quantitative Unterschiede zeigen, dürfte es sich immer um die gleichen extrahierten Stoffe handeln, über deren Herkunft allerdings keine Aussagen gemacht werden können.

Wichtig ist ferner der pH-Wert des Homogenates. Wurden Blätter von *Cichorium* in 0,4 molarer Glucose (Leitungswasser) homogenisiert, so sank der pH-Wert von 7 um ca. 0,3 Einheiten. Dieser um den Neutralpunkt liegende pH-Wert hat nicht nur Bedeutung für den Erhaltungszustand der Plastiden; so würden nämlich bei saurer Reaktion des Homogenates größere Mengen primär gelöster Eiweißkörper ausfallen und die Isolation der Plastiden erschweren. Außerdem müssen enzymatische Vorgänge berücksichtigt werden. So zeigte Holden (1952), daß das Wirkungsoptimum von Nucleasen in Homogenaten von Tabakblättern bei einem pH-Wert um 5,5 liegt. Zellkerne bzw. Kernfragmente würden im sauren Medium von Nucleasen zu löslichen Stoffen (Nucleotide, Nucleoside) abgebaut. Andererseits besteht die Gefahr, daß primär in den Plastiden enthaltene Nucleinsäure in lösliche Abbauprodukte übergeführt wird.

### Auswahl des Untersuchungsobjektes

Ähnliche cytologische Beobachtungen wie in den Homogenaten von *Viola tricolor* und *Cichorium endivia* ließen sich auch an anderen Objekten machen. Bezüglich des cytomorphologischen Erhaltungszustandes der Chloroplasten nach erfolgter Homogenisation sind viele Objekte für die Isolation dieser Zellorganellen geeignet. Bei der Auswahl des Untersuchungsobjektes wurden möglichst viele Faktoren, die zu Komplikationen und unnötigen Schwierigkeiten führen könnten, berücksichtigt.

Zunächst waren leicht kultivierbare Pflanzen mit großflächigen und wenig Festigungsgewebe führenden Blättern zu fordern. Weiter mußten Pflanzeninhaltsstoffe — besonders die im Zellsaft gelösten — beachtet werden. Durch einen geeigneten Puffer und große Verdünnung kann man organische Säuren in ihrer schädigenden Wirkung auf Zellorganellen hemmen. Dagegen würden Gerbstoffe unlösliche Komplexe mit Eiweißkörpern bilden und einen Großteil löslicher Proteine ausfällen, die ihrerseits die Chloroplasten mit einem schwer zu entfernenden Eiweißfilm umgeben würden (vgl. Waygood und Clendenning 1950). Kann man die Auswirkung dieser Faktoren leicht überblicken, so ist es ratsam, auch solche Stoffe zu berücksichtigen, deren Einfluß nicht augenscheinlich zu sein braucht. So sind oberflächenaktive Stoffe, die zu starken Veränderungen

der Permeabilitätsverhältnisse an den einzelnen Zellorganellen führen können, zu beachten. Es kann als sicher gelten, daß isolierte Chloroplasten andere Permeabilitätsverhältnisse haben als in der intakten Zelle. Anwesende oberflächenaktive Stoffe würden nur zu weiteren Komplikationen führen. Diese Möglichkeit mußte in Rechnung gestellt werden, als die saponinhaltigen Blätter von *Viola tricolor* als Untersuchungsobjekt geprüft wurden. Es konnten mit Hilfe der modifizierten Blutgelatine-Methode (Fischer 1930) einige Hinweise erlangt werden, die für eine Reaktion des *Viola*-Saponins mit den Chloroplasten sprechen (Kern 1936). Wieweit allerdings die Gegenwart von Saponinen Einfluß auf die Extraktion und sekundären Umlagerungen von Nucleinsäuren hat, dürfte schwer zu entscheiden sein.

Unter diesen Gesichtspunkten wurde schließlich *Cichorium endivia* („Eskariol, grün, glatt“) als Objekt gewählt. Diese Pflanze ist schnellwüchsig, besitzt großflächige Blätter und ist gegen Witterungseinflüsse sehr widerstandsfähig. Die Blätter sind frei von Saponin und Gerbstoffen. Für die Versuche wurde Blattmaterial von Gewächshaus- und z. T. von Freilandpflanzen benutzt; für die Hauptversuche wurden ausschließlich Blätter von Freilandpflanzen verarbeitet.

### Einwirkung von Aktivkohle auf das Homogenat

Durch die Wahl des Untersuchungsobjektes und Homogenisationsmediums waren die ersten Voraussetzungen für die beabsichtigte Isolation von Chloroplasten gegeben. Durch geeignete Abwandlung der Isolations-technik mußten nun die mit der Reindarstellung von Plastiden durch Zentrifugation verbundenen Schwierigkeiten behoben werden. Diese bestehen im wesentlichen darin, daß Zellkernfragmente infolge ihres erhöhten Schwebvermögens mit in die Chloroplastenfraction eingehen. In Voruntersuchungen wurden die von verschiedenen Autoren angewandten Zentrifugations-schemata überprüft und zuweilen abgewandelt. In den Ausstrichen dieser Chloroplastenfractionen ließen sich immer Beimengungen von Kernbruchstücken nachweisen (s. o.) und somit die von Weier und Stocking (1952 b) gemachte Feststellung bestätigen, wonach die Abtrennung von Kernbruchstücken allein durch Differentialzentrifugation nicht befriedigt. Durch mühselige und langwierige Zentrifugationsfolgen gelang es zwar, den Reinheitsgrad der Plastidensedimente zu verbessern, jedoch war dann die Ausbeute sehr gering. Außerdem verbot die lange Dauer des Präparations-ganges ein solches Vorgehen.

Es mußten also andersartige Methoden zur weiteren Reinigung der Plastidenfractionen herangezogen werden. Jagendorf und Wildman (1954) konnten zeigen, daß durch wiederholtes Filtrieren des Homogenates durch Papierfilter erhebliche Mengen DNS — insbesondere Kernmaterial — selektiv zurückgehalten werden. Hierbei handelt es sich vermutlich nicht nur um eine reine Filterwirkung des Papiers, sondern auch um adsorptive Vorgänge. Chloroplasten und Zellkerne unterscheiden sich stark in stofflicher Hinsicht. Die Annahme liegt nahe, daß sie auch andere

Oberflächeneigenschaften besitzen und sich gegenüber Adsorptionsmitteln unterschiedlich verhalten. Daher wurde versucht, durch Behandlung des Homogenates mit Adsorptionsmitteln die Abtrennung der Zellkernfragmente zu begünstigen. Aus verschiedenen Gründen schien die Verwendung von Aktivkohle (Kohlegranulat, Merck) angebracht zu sein. Für die praktische Anwendung von Aktivkohle war es wichtig, die im Homogenat suspendierten Kohlepartikeln nach einiger Zeit durch Filtration (Schleicher und Schüll 520 a und besonders 520 b) wieder zu entfernen.

In den nun zu beschreibenden Untersuchungen wurden die Auswirkungen eines Kohlezusatzes zum Homogenat erfaßt, wobei folgende Punkte beachtet wurden:

1. Wird das mengenmäßige Verhältnis von Zellkernen zu Plastiden verändert?
2. Erfolgt eine Beeinflussung des Sedimentationsverhaltens von Zellkernen und Plastiden?
3. Wieweit werden Eiweißkörper adsorbiert?
4. Kommt es zu Verschiebungen des pH-Wertes im Homogenat?

Es mußten also die Verhältnisse in den üblichen Homogenaten (s. o.) denen mit Kohle behandelten vergleichend gegenübergestellt werden. Bei den biochemischen Untersuchungen wurden die betreffenden Mengen an Chloroplasten durch quantitative Chlorophyllbestimmungen ausgedrückt (Gesamtchlorophyll nach der Methode von Arnon 1949). Zellkernmaterial, als Hauptträger von DNS, wurde durch quantitative DNS-Bestimmungen erfaßt (NS-Extraktion nach Ogur und Rosen 1950; DNS-Bestimmung nach Dische 1930). Stickstoffbestimmungen dienten als Maß für Eiweißkörper (Kjeldahl-Verfahren: Aufschluß mit konz. Schwefelsäure + 0,7% Selenioxyd; Destillation in dem Mikrokjeldahlgerät nach Benz 1949).

### Verschiebungen des Verhältnisses von Zellkern zu Chloroplastenmaterial

Diese Frage wurde durch Anwendung biochemischer und cytochemischer Methoden geklärt.

#### a) biochemisch

##### Methode:

Aus Blättern von *Cichorium endivia* wurde in der üblichen Weise ein Homogenat hergestellt (0,4 molare Glucose in Leitungswasser). Dieses wurde durch ein Leinentuch geseiht und dann durch eine ca. 4 cm dicke, nicht zu feste Lage Glaswolle filtriert. Von dieser Suspension wurde nach gründlicher Durchmischung etwa ein Drittel abgossen (Homogenat A). Der übrige Teil (Homogenat B) wurde mit einer Spatelspitze Kohlegranulat (Merck) versetzt, gründlich umgerührt und 10 Minuten in Eiswasser gestellt. Darauf wurde von dem schwarzen Bodensatz abgossen und filtriert (Schleicher und Schüll 520 b). Unterdessen wurden gleiche Anteile von Homogenat A in Zentrifugengläser pipettiert und 10 Minuten bei 475 g zentrifugiert. Aus den so erhaltenen Sedimenten wurde mit Aceton das Chlorophyll extrahiert und quantitativ bestimmt (s. o.); der Rückstand wurde auf DNS-Gehalt untersucht. In gleicher Weise wurde mit Homogenat B verfahren.

Beim Vergleich der Analysenwerte beider Homogenate ließen sich Verluste an DNS zwischen 60 und 77% feststellen. In der folgenden Tabelle sind die Werte je zweier Analysen angeführt:

Homogenat	DNS	Chlorophyll	DNS : Chlorophyll	Verlust an DNS
A <sub>1</sub>	16 $\gamma$	1,077 mg	1 : 67	60%
B <sub>1</sub>	15 $\gamma$	2,525 mg	1 : 169	
A <sub>2</sub>	21 $\gamma$	1,200 mg	1 : 57	77%
B <sub>2</sub>	12,5 $\gamma$	3,175 mg	1 : 250	

### b) cytochemisch

#### Methode:

Homogenat A und B wurden in gleicher Weise wie oben hergestellt. Von den Sedimenten beider Homogenate wurden nacheinander je 20 Proben entnommen, auf Objektträger gebracht, mit einem Tropfen Karminessigsäure versetzt (Romeis 1948) und nach leichter Erwärmung mikroskopiert. Von jedem Präparat wurden je zehn Ausschnitte bestimmter Größe — in das Okular wurde eine Schablone eingelegt — ausgezählt. Um das psychologische Moment auszuschalten, wurde „verdeckt“ gearbeitet, d. h. auf der Unterseite der Objektträger — von oben nicht sichtbar — wurde die Herkunft (Homogenat A bzw. B) vermerkt. Weiter wurden mit Hilfe des Kreuztisches zehn bestimmte Stellen festgelegt, die für alle Präparate verbindlich waren. Neben der summarischen Auszählung der Plastiden und Zellkerne wurde außerdem die Gestalt der Kerne berücksichtigt und dabei in „intakte“ und zerstörte Zellkerne differenziert. Unter letzteren wurden Bruchstücke und die sogenannten „threads“ (vgl. Abb. 5—8) verstanden, während es sich bei den „intakten“ Kernen um kompakte, rund bis ovale Gebilde handelte. Durch diese Unterscheidung sollten Anhaltspunkte für das Sedimentationsverhalten des Kernmaterials gewonnen werden.

#### Aus den Ergebnissen der Auszählungen:

Homogenat	Kern : Plastiden	% Kerne	% zerst. Kerne	Verlust an Kernen
A	1 : 40	100	61	61,2%
B	1 : 103	38,8	26,8	

geht auch hier ein eindeutiger Verlust an Zellkernmaterial zugunsten der Chloroplasten hervor. Außerdem kann nach Kohlebehandlung (Homogenat B) eine Verringerung zerstörter Kerne festgestellt werden. Deshalb durfte auch eine Änderung der Sedimentation von Kernmaterial erwartet werden (vgl. Weier und Stocking 1952 b).

### Einfluß auf die Sedimentation

#### a) von DNS-haltigem Material

Das Sedimentationsverhalten von Zellkernmaterial in den Homogenaten A und B wurde in folgender Weise bestimmt:

Gleiche Mengen (10 ml) der Suspensionen wurden in die Einsatzbecher der

Winkelzentrifuge pipettiert. Die Anzahl der für jede Zentrifugationsserie benutzten Becher richtete sich nach den zu erwartenden DNS-Mengen. Die entsprechenden Becher wurden 12 Minuten bei folgenden Geschwindigkeitsstufen zentrifugiert:

500 UpM (Umdreh./Min.)	ca. 30 g
1000	125 g
1500	300 g
2000	475 g
3000	1100 g

Die angegebenen Normalbeschleunigungen sind einer Eichkurve entnommen und gelten für den größten Abstand von der Drehachse, der tangential an die Innenkalotte des Einsatzbechers reicht. Die ermittelten DNS-Mengen der verschiedenen Sedimente wurden prozentual auf den DNS-Gehalt des

unter gleichen Bedingungen gewonnenen Sedimentes der Stufe 3000 UpM bezogen (Abb. 9). Es lassen sich deutliche Unterschiede in der Sedimentation

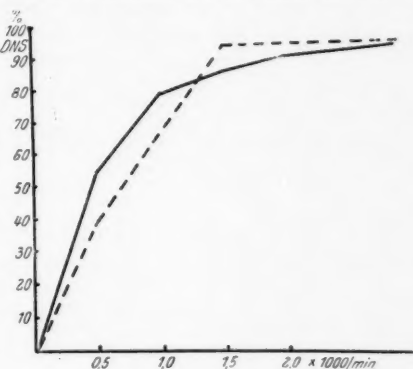


Abb. 9. Sedimentationsverhalten von DNS-haltigem Material ——— Homogenat A; — — — — Homogenat B.

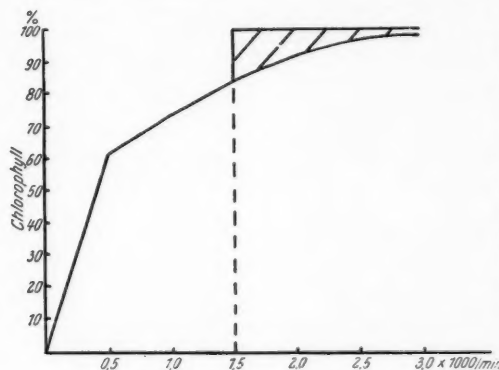


Abb. 10. Sedimentationsverhalten von Chloroplastenmaterial. Die schraffierte Fläche gibt den Anteil der Plastiden an, der nach Entfernung der Hauptmasse an Kernmaterial (1500 UpM) im Homogenat verbleibt.

DNS-haltigen Materials bei den Homogenaten A und B feststellen. Während Homogenat A eine schleppende Sedimentation zeigt, ist bei Homogenat B beginnend bei der Stufe 1500 UpM die Sedimentation einheitlich, d. h. die Kurve verläuft der Abszisse annähernd parallel. Dies kann so verstanden werden, daß durch die Behandlung des Homogenates mit Aktivkohle und anschließender Filtration die uneinheitlich sedimentierenden Kernreste zum großen Teil entfernt sein dürften.

#### b) von Chloroplastenmaterial

In analoger Weise erfolgte die Charakterisierung der Plastidensedimentation durch Chlorophyllbestimmungen. Die Behandlung des Homogenates (B) führte zu keinen wesentlichen Änderungen im Sedimentationsverhalten der Plastiden. Das in Abb. 10 gezeigte Schaubild gibt



die Verhältnisse eines mit Kohle behandelten Homogenates wieder (Mittelwerte aus je drei Einzelmessungen). Bei der beabsichtigten Isolation von Plastiden muß das Sedimentationsverhalten des Zellkernmaterials berücksichtigt werden. Wie aus Abb. 9 hervorgeht, erfolgt die Sedimentation des DNS-haltigen Materials ab Stufe 1500 UpM gleichmäßig, d. h. bei dieser sedimentieren ca. 97% Kernmaterial. Die schraffierte Fläche im Schaubild (Abb. 10) gibt den Anteil von Chloroplasten an, der nach erfolgter Zentrifugation bei 1500 UpM frei von DNS-haltigen Partikeln sein dürfte.

### Der pH-Wert des Homogenates

Wie bereits erwähnt, muß der pH-Wert des Homogenates beachtet werden. In der folgenden Übersicht werden die pH-Verschiebungen bei unterschiedlicher Behandlung der Homogenate wiedergegeben. Die Messungen erfolgten mit einer Glaselektrode („pH-Meter“ der Fa. Püsl, München):

a) 0,4 molare Glucose in Leitungswasser	7,0
b) Homogenat in Medium a	6,8—7,0
c) Homogenat unter b mit Kohle behandelt	6,7
d) Homogenat in 0,4 molarer Glucose in dest. Wasser	6,2
e) Homogenat unter d mit Kohle behandelt	5,9—6,0
f) dest. Wasser allein	4,9—5,0

Die Messungen zeigen, daß der Zusatz von Aktivkohle zum Homogenat keine wesentliche Verschiebung des pH-Wertes bewirkt.

### Adsorption von Eiweißkörpern

Da eine Adsorption von Eiweißkörpern an suspendierte Chloroplasten möglich ist (Weier und Stocking 1952a, Metzner 1954) und kleine, vermutlich vom Hyaloplasma herrührende Koagulate die Plastidenfraktionen verunreinigen, wurde geprüft, wie weit Eiweißkörper durch Behandlung des Homogenates mit Kohle entfernt werden können. Zunächst interessierten die gemeinsam mit den Plastiden sedimentierenden Eiweißkörper. Zu diesem Zweck wurden gleiche Anteile von Homogenat A und B 10 Minuten bei 475 g zentrifugiert. Für die Bestimmung des Stickstoff-Chlorophyll-Verhältnisses wurde aus den Sedimenten zunächst das Chlorophyll mit Aceton extrahiert und quantitativ kolorimetriert. Der Rückstand wurde dann wie oben der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl unterworfen. Die Werte von je zwei Analysen werden hier wiedergegeben:

Sediment	Stickstoff	Chlorophyll	Stickstoff : Chlorophyll
A <sub>1</sub>	0,315 mg	0,3400 mg	1 : 1,06
A <sub>2</sub>	0,350 mg	0,3804 mg	1 : 1,09
B <sub>1</sub>	0,193 mg	0,2456 mg	1 : 1,3
B <sub>2</sub>	0,189 mg	0,2436 mg	1 : 1,3

Hieraus ergibt sich ein durch den Kohlezusatz bedingter Verlust von 17,3% Stickstoff zugunsten des Chlorophyllgehaltes. Dabei muß berück-

sichtigt werden, daß die Plastiden selbst ein Stickstoff-Chlorophyll-Verhältnis von 1 : 1 haben können (J a g e n d o r f und W i l d m a n 1954).

Weiter wurde die Adsorptionsfähigkeit der Aktivkohle auf ein bereits bei 475 g zentrifugiertes Homogenat untersucht. Bei dieser Zentrifugationsstufe werden die meisten Chloroplasten niedergeschlagen. In der überstehenden Flüssigkeit sind im mikroskopischen Bild neben Chloroplasten unterschiedlich große Koagulate zu sehen. Von dieser Suspension wurde ein Teil mit Kohle versetzt, gründlich gerührt, 10 Minuten in Eiswasser aufbewahrt und filtriert (Schleicher und Schüll 520 b). Gleiche Volumina der unbehandelten ( $S_a$ ) und der behandelten ( $S_b$ ) Suspensionen wurden in der Kälte mit dem doppelten Volumen 96%igem Äthanol versetzt. Nach einer Stunde wurde der Niederschlag abzentrifugiert, nochmals mit Äthanol gewaschen und dann der Stickstoffgehalt bestimmt. Es zeigten sich folgende Resultate:

Sediment	Stickstoff	Prozent	Verlust
$S_a$	0,343 mg	100	47%
$S_b$	0,182 mg	53	

Von weiterem Interesse war die Frage, in welchem Maße gelöste bzw. bei hohen Geschwindigkeiten nicht sedimentierbare Eiweißkörper von der Aktivkohle adsorbiert werden. Zu diesem Zweck wurde ein in bekannter Weise hergestelltes Homogenat 30 Minuten bei ca. 16.000 g zentrifugiert. Ein Teil der bernsteinfarbenen Flüssigkeit ( $\bar{U}_a$ ) wurde mit Kohle versetzt ( $\bar{U}_b$ ) und nach 10 Minuten filtriert. Gleichvolumige Anteile dieser Flüssigkeiten wurden wieder mit Äthanol versetzt und der Stickstoffgehalt der Niederschläge bestimmt:

Sediment	Stickstoff	Prozent	Verlust
$\bar{U}_a$	1,544 mg	100	32,3%
$\bar{U}_b$	1,050 mg	67,7	

Da Äthanol Nucleinsäuren und Nucleoproteide ausfällen kann, wurden die Niederschläge von  $\bar{U}_a$  und  $\bar{U}_b$  auf ihren NS-Gehalt untersucht. In  $\text{HClO}_4$ -Extrakten (O g u r und R o s e n 1950) fiel die Dische-Reaktion negativ aus. Papierchromatographisch konnten nur Hinweise für das Vorkommen von RNS gewonnen werden. Der quantitative Vergleich der NS-Mengen von  $\bar{U}_a$  und  $\bar{U}_b$  erfolgte durch Bestimmung des NS-Phosphors (NS-P) in den  $\text{HClO}_4$ -Extrakten nach der Methode von B e r e n b l u m und C h a i n (1938):

Sediment	NS-P	Prozent	Verlust
$\bar{U}_a$	76 $\gamma$	100	22,4%
$\bar{U}_b$	59 $\gamma$	77,6	

Auch im UV-Absorptionsvermögen ließen sich bei den Flüssigkeiten  $\bar{U}_a$  und  $\bar{U}_b$  erhebliche Unterschiede feststellen.

### Die Zentrifugation

In den bisher beschriebenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß sich ein Zusatz von Aktivkohle zum Homogenat in verschiedener Hinsicht günstig auswirkt. Es bietet sich somit die Möglichkeit, durch geeignete Kombination von Adsorption (Kohlebehandlung und Verwendung von Papierfiltern) und Zentrifugation saubere Chloroplastenpräparate zu gewinnen.

Es ist aus physikalischen Gründen nicht zu erwarten, daß bei der üblichen Differentialzentrifugierung die jeweiligen Sedimente einheitlich sind. Bekanntlich ist für die Sedimentation suspendierter Körper gleicher Größe und Dichte deren Abstand von der Drehachse ausschlaggebend. So ist es verständlich, daß Partikeln unterschiedlicher Dichte und Größe wie Chloroplasten, Beimengungen von Koagulaten, Stärkekörnern etc. bei entsprechenden Abständen von der Drehachse der Zentrifuge ein gleiches Sedimentationsverhalten haben können. Nur durch wiederholtes Zentrifugieren der wieder suspendierten Sedimente kann man eine Reinigung von den unerwünschten Partikeln erzielen. Eine wesentliche Vereinfachung bedeutet daher die von Wilbur und Anderson (1951) entwickelte Methode. Sie beruht im Prinzip darauf, daß man ein spezifisch schwereres Medium mit der betreffenden Suspension in dünner Lage überschichtet. Die Partikeln dieser Suspension haben dann alle den gleichen Abstand von der Drehachse einer Horizontalzentrifuge und werden somit auch den gleichen Zentrifugalkräften ausgesetzt. Unter Ausnützung dieser Trennungsmöglichkeit wurden die mit der Winkelzentrifuge („Eispirouette“ der Fa. Phywe, Göttingen) gewonnenen Plastidenfraktionen in der Horizontalzentrifuge noch weiter gereinigt, indem die in Glucoselösung suspendierten Chloroplasten mit einer gleichmolaren Lösung von Saccharose in Leitungswasser — als spezifisch schwererem Medium — unterschichtet wurden. Durch zwei- bis dreimalige Wiederholung dieser Zentrifugation wurden die meisten Stärkekörner und kleineren Koagulate soweit entfernt, daß ihre Beimengung in den Plastidenfraktionen vernachlässigt werden konnte.

### Arbeitsgang der Isolation von Chloroplasten

Die Ergebnisse aller vorausgegangenen Untersuchungen wurden bei der Isolation der Chloroplasten von *Cichorium endivia* berücksichtigt und dabei folgender Arbeitsgang gewählt:

1. Voll entfaltete Blätter von *Cichorium endivia* wurden in den frühen Morgenstunden (geringer Stärkegehalt) gesammelt, in kaltem Leitungswasser gründlich gewaschen und die Blattstiele und Mittelrippen entfernt.
2. Unterdessen wurde der Behälter des Homogenisators („Starmix“) von außen mit Kohlensäureschnee vorgekühlt. Als Homogenisationsmedium wurde frisch angesetzte 0,4 molare Glucose in Leitungswasser im Kühlschrank auf 0 bis +5°C temperiert.
3. Etwa 100 g Blattmaterial wurde mit ca. 450 ml der gekühlten Glucoselösung übergossen und 30 Sekunden im „Starmix“ bei der Geschwindigkeitsstufe II homogenisiert. Auf eine vollständige Zerstörung der Blätter wurde verzichtet, um die Deformation der Zellkerne nicht zu erhöhen.

4. Dann wurde der Blattbrei durch ein Leinentuch gedrückt. Die so gewonnene Suspension wurde schnell durch eine ca. 5 cm dicke, nicht zu feste Lage von Glaswolle (Merck) gefiltert, in einem in Eiswasser stehenden Becherglas aufgefangen, mit einem gestr. Teelöffel Kohlegranulat (Merck) versetzt und mit einem Glasstab umgerührt. Sie blieb ca. 10 Minuten im Eiswasser stehen. Es war nicht zweckmäßig, die Kohle schon vor der Homogenisation zuzusetzen, da sie dann zu fein zerteilt und schwierig zu entfernen war.

5. Danach wurde vorsichtig von dem Kohleschlamm dekantiert und die noch schwarze Suspension zur Entfernung der Kohlepartikeln etwa fünfmal durch verschieden dicke Lagen von Glaswolle und Cellulosewatte gefiltert. Hierzu wurde eine sogenannte „Filtriertulpe“ benutzt, ein zylindrisches Glasgefäß von 4 cm Durchmesser und 7 cm Länge, das in einen Trichterstiel ausläuft. Diese „Tulpe“ enthielt unmittelbar über dem Abfluß Cellulosewatte in dünner Lage und darüber Glaswolle. Mit zunehmender Entfernung der Kohlepartikeln konnte die Schicht der Cellulosewatte bis zu 5 cm Dicke erhöht werden. Nach diesen Operationen wurde die nun wieder grüne Suspension durch ein doppeltes Papierfilter (Schleicher und Schüll 520 b) gefiltert.

6. Jetzt schlossen sich die Zentrifugationen an. Das Homogenat wurde in die Einsatzbecher (insgesamt 20 Becher mit je 12,5 ml Inhalt) pipettiert, 12 Minuten bei 475 g und 0 bis +5°C in der Winkelzentrifuge zentrifugiert und danach das Überstehende verworfen. Die Sedimente in den Bechern wurden mit frischer Glucoselösung aufgeschüttelt, in einem in Eiswasser stehenden Becherglas auf ca. 200 ml Gesamtvolumen gebracht und dreimal durch Papierfilter (Schleicher und Schüll 520 b) gefiltert. Dann wurde die Suspension wieder in die Einsatzbecher pipettiert und 5 Minuten bei 300 g (1500 UpM) zentrifugiert, um noch vorhandenes Zellkernmaterial (vgl. Abb. 9 und 10) zu sedimentieren. Die überstehende Flüssigkeit wurde 12 Minuten bei 475 g zentrifugiert. Die Sedimente wurden mit Glucoselösung aufgenommen und durch erneute Zentrifugation in einem Einsatzbecher vereinigt.

7. Diese konzentrierte, tiefgrüne Suspension wurde in den Einsatzgläsern der Horizontalzentrifuge mit kalter 0,4 molarer Saccharoselösung in Leitungswasser unterschichtet und 10 Minuten bei ca. 350 g zentrifugiert. Die leicht trübe, grünlige überstehende Flüssigkeit wurde verworfen. Die obere Schicht des Sedimentes wurde vorsichtig mit Glucoselösung aufgewirbelt und von der unteren Schicht, die neben Chloroplasten zahlreiche Stärkekörner enthielt, abgegossen und noch zwei- bis dreimal in gleicher Weise mit Saccharoselösung unterschichtet und zentrifugiert.

8. Bevor an den so erhaltenen Endfraktionen biochemische Untersuchungen erfolgten, wurden sie mikroskopisch überprüft. Zum Nachweis andersartiger Beimengungen wurden die bereits besprochenen Färbungen bzw. cytochemischen Reaktionen an Ausstrichen durchgeführt. Bezüglich des Reinheitsgrades der Plastidenfraktionen ist festzustellen, daß feulgengefärbte Ausstriche keine Anhaltspunkte für Zellkerne bzw. Kernreste boten. Nur selten ließen sich einige rötlich erscheinende Partikeln mit einem Durchmesser von ca.  $1\ \mu$  beobachten. Es soll aber nicht verschwiegen werden, daß bei Anfärbung mit Toluidinblau vereinzelt plasmatische Koagulate zu erkennen waren, deren mengenmäßiger Anteil jedoch vernachlässigt werden konnte.

Infolge der geringen Kapazität der Winkelzentrifuge konnten in dem beschriebenen Arbeitsgang nur Ausbeuten von 4 bis 8 mg an Chloroplasten gewonnen werden.

### Nachweis von Nucleinsäuren

Die für NS charakteristische UV-Absorption mit einem Maximum bei 2600 Å ist bedingt durch die Purine und Pyrimidine. Mit spektroskopischen Methoden lassen sich noch sehr geringe Mengen an NS nachweisen. Allerdings ist hierbei keine Differenzierung in DNS und RNS möglich. Diesen Nachteil könnte man durch Anwendung selektiver Extraktionsmethoden ausgleichen. Liegen aber Gemische beider NS vor, so bietet die Papierchromatographie die Möglichkeit, die Basen der betreffenden NS nach vorangegangener Hydrolyse zu trennen und durch den Nachweis von Uracil und Thymin auf RNS bzw. DNS zu schließen. Der Aufbau der beiden NS-Typen geht aus folgender Zusammenstellung hervor:

	RNS	DNS
Zuckerkomponente	D-Ribose	2-Desoxyribose
Purine	Adenin Guanin	Adenin Guanin
Pyrimidine	Cytosin — — Uracil —	Cytosin 5-Methyleytosin 5-Oxymethyleytosin — Thymin
Phosphorsäure	Phosphorsäure	Phosphorsäure

Außerdem können durch Zuckerreaktionen beide NS unterschieden werden. Für den spezifischen Nachweis der DNS ist die Reaktion nach Dische (1930) üblich. Auch für die RNS bestehen quantitative Bestimmungsmethoden. Es muß darauf hingewiesen werden, daß die Empfindlichkeit der Dischereaktion nicht ausreicht, um DNS-Mengen unter 5  $\mu$ /ml einwandfrei nachzuweisen. Die auf Pentosenreaktionen beruhenden RNS-Bestimmungen sind nicht immer verläßlich, da Pentosane und Polyuronsäuren (Chibnall 1939, McClendon 1952, Euler und Hahn 1948, Sisakjan und Odjinzowa 1954) ebenfalls erfaßt werden. — Zum Nachweis des Nucleinsäurephosphors (NS-P) sind zahlreiche Methoden anwendbar. Es handelt sich hierbei um spezifische P-Nachweise; die Gewähr dafür, daß der nachgewiesene Phosphor NS-P ist, können nur einwandfreie NS-Extraktionsmethoden geben.

Da von den zu untersuchenden Plastidenpräparaten aus methodischen Gründen nur geringe Mengen zur Verfügung standen und der NS-Gehalt ohnehin niedrig zu veranschlagen war, mußte auf vollständige Extraktion der NS besonderer Wert gelegt werden. McClendon (1952) wandte erstmalig die von Ogur und Rosen (1950) ausgearbeitete NS-Extraktionsmethode auf Blattmaterial an und hierbei besonders auf Chloroplastenfraktionen. Auch Jagendorf und Wildman (1954) und Ja-



Jagendorf (1955) bedienten sich dieser Methode in abgewandelter Form. Da in den vorliegenden Untersuchungen die Arbeiten dieser Autoren besonders berücksichtigt werden mußten und die Methode von Ogur und Rosen in verschiedener Hinsicht geeignet zu sein schien, wurde sie ebenfalls angewandt.

Die Extraktionsmethode nach Ogur und Rosen besteht im Prinzip darin, daß der eigentlichen NS-Extraktion mit  $\text{HClO}_4$  mehrere Waschungen zur Entfernung störender Stoffe vorausgehen. Bei der  $\text{HClO}_4$ -Extraktion werden die NS von ihrer Proteinkomponente abgespalten und gehen — z. T. hydrolysiert — in Lösung.

Die Methode gliedert sich in folgende Arbeitsgänge:

1. Behandlung des Gewebes mit 70%igem Äthanol, der abzentrifugierte Rückstand wird mit 70%igem Äthanol + 0,1% (v/v)  $\text{HClO}_4$  aufgenommen und wieder abzentrifugiert.

2. Extraktion der Lipoide durch zweimalige Behandlung mit Äthanol:Äther (3:1) 3 Minuten im Wasserbad. Der Rückstand wird zweimal mit kalter 0,2  $n$   $\text{HClO}_4$  nachgewaschen.

3. Extraktion der RNS: Rückstand unter 2. wird mit 1  $n$   $\text{HClO}_4$  versetzt und 18 Std. bei +4° C im Kühlschrank aufbewahrt. Anschließend wird noch zweimal mit kalter Perchlorsäure nachgewaschen.

4. Extraktion der DNS: im Anschluß an Stufe 3 wird der Rückstand mit 0,5  $n$   $\text{HClO}_4$  im Wasserbad von 70° C 20 Minuten behandelt.

5. Die im Extraktionsrückstand von Stufe 4 noch vorhandenen Phosphoproteide können durch 2  $n$  NaOH im kochenden Wasserbad (10 Min.) herausgelöst werden.

Mit dieser Methode können die NS ohne umständliche Manipulationen quantitativ in spektroskopisch reiner Form gewonnen werden. Allerdings wird die vollständige Trennung von RNS und DNS nach dieser Methode von manchen Autoren bestritten (McClendon 1952, DiStefano 1952, Heilinger 1954, Markham 1955). Deshalb empfahl es sich, bei der Aufarbeitung des Plastidenmaterials die NS gemeinsam zu extrahieren, d. h. Stufe 3 und 4 der Originalmethode zu vereinigen, um mit geeigneten Methoden eine Differenzierung vorzunehmen. So extrahierten Jagendorf und Wildman (1954) und Jagendorf (1955) nur mit 0,5  $n$   $\text{HClO}_4$  bei 70° C, ließen also die kalte  $\text{HClO}_4$ -Extraktion fort, und beschränkten sich darauf, den Gesamt-NS-Gehalt quantitativ durch spektrophotometrische Messungen und NS-P-Bestimmungen zu erfassen. Eine biochemische Analyse der Chloroplastenpräparate könnte sich auf folgende — nacheinander bzw. parallel am gleichen Präparat durchführbare — Bestimmungen gründen:

1. Chlorophyllbestimmung;

2. NS-Extraktion nach der abgewandelten Methode von Ogur und Rosen und nachfolgend

- a) qualitative und eventuell quantitative spektroskopische Analysen,

- b) NS-P-Bestimmung (P-Bestimmung nach Berenblum und Chain 1938) und

- c) papierchromatographische Trennung der NS-Basen nach Hydrolyse;

3. Stickstoffbestimmung des Rückstandes von 2. als Maß für den Proteingehalt.

Die Absorptionsspektren wurden mit dem Spektrographen Qu 24 von Zeiss aufgenommen<sup>2</sup>. Als Lichtquelle diente hierbei die Xenon-Höchstdrucklampe XBO 301 von Osram. Die Küvette (Länge 100 mm, lichte Weite 4,2 mm, aufgekittete Quarzfenster) befand sich im parallelen Strahlengang mit ihrer Achse parallel zur optischen Achse der Abbildung. Die Auswertung der auf einer photographischen Platte aufgenommenen Spektren erfolgte gegen Leeraufnahmen (Küvette mit dest. Wasser) mit dem selbstregistrierenden Mikrophotometer von Kipp und Zonen (Delft, Holland). Aus den Unterschieden im Verlauf der Registrierkurven von der Leeraufnahme und der Analysenprobe läßt sich der qualitative Verlauf der Absorption erkennen und durch Vergleich mit Eichproben ggf. auch quantitativ ermitteln. Nur in einem Fall wurden Messungen mit einem direktanzeigenden Spektralphotometer durchgeführt.

### Anwendung der Methode von Ogur und Rosen auf Blattmaterial und isolierte Plastiden

Aus den dargelegten Gründen wurden RNS und DNS gemeinsam extrahiert. Hierbei erfolgte zunächst entsprechend der Originalvorschrift die Extraktion mit  $1\text{ n HClO}_4$  ( $+ 40^\circ\text{C}$ , 18 Std.), dann wurde anschließend — also ohne Entfernung des „RNS-Extraktes“ — 20 Minuten im Wasserbad von  $70^\circ\text{C}$  erwärmt. Um die Anwendbarkeit dieser abgewandelten Methode auf Blattmaterial von *Cichorium endivia* prinzipiell zu überprüfen, wurde ein ungereinigtes Sediment (Zellkernmaterial) auf diese Weise extrahiert. Von dem klaren, leicht gelblichen Extrakt wurde mit dem Quarzspektrographen das UV-Absorptionsspektrum aufgenommen. Die mit Hilfe des Mikrophotometers aufgezeichnete Registrierkurve der entwickelten Photoplate ist in Abb. 11 wiedergegeben. Die Orientierung der registrierten Schwärzungsgrade (Durchlässigkeit der geschwärzten Photoplate) erfolgte so, daß die maximale Schwärzung unten und die größte Durchlässigkeit oben zu liegen kommt. Demnach hat die geschwärzte Photoplate im Bereich um  $2600\text{ Å}$  ihre größte Durchlässigkeit, gleichbedeutend mit dem Absorptionsmaximum des betreffenden Extraktes.

Da die bei der gemeinsamen NS-Extraktion gewonnene RNS entgegen der Vorschrift noch erwärmt wird, könnte es zu Absorptionsverschiebungen der RNS kommen. Zur Prüfung dieser Möglichkeit wurde ein nach Punkt 3 der Vorschrift gewonnener Extrakt aus Blättern unterschiedlich behandelt: ein Teil der Lösung wurde 20 Minuten im Wasserbad bei  $70^\circ\text{C}$  gehalten, während der andere weiter in der Kälte aufbewahrt wurde. Aus Abb. 12 a ist ersichtlich, daß beide Extrakte kaum Veränderungen in ihrem Absorptionsverhalten zeigen, wenn gleiche Bedingungen bei der spektroskopischen Analyse eingehalten werden. Die gleiche Feststellung ließ sich beim Vergleich von Extrakten (Punkt 4) mit warmer  $0,5$  bzw.  $1\text{ n HClO}_4$  machen.

<sup>2</sup> Durch das freundliche Entgegenkommen des Direktors des Physikalischen Institutes der Universität Münster, Herrn Prof. Dr. Kappler, und die fördernde Unterstützung von Herrn Prof. Dr. van Calster wurden die Absorptionsmessungen ermöglicht. Die Analysen wurden unter Anleitung bzw. gemeinsam mit Herrn Diplom-Physiker Lehmann durchgeführt. Den genannten Herren möchte ich an dieser Stelle herzlich danken.

Nachdem so die Anwendbarkeit der variierten Methode von O g u r und R o s e n auf Blattmaterial erwiesen war, wurden Plastidenpräparate in gleicher Weise extrahiert. Wider Erwarten zeigten alle auf diese Weise gewonnenen Plastidenextrakte keine für NS typische Registrierkurven wie in der Abb. 11, obwohl aus dem ermittelten Phosphorgehalt (NS-P) der betreffenden Extrakte auf erhebliche Mengen an NS geschlossen werden konnte. In Abb. 12 b sind die Registrierkurven von zwei verschiedenen Plastidenextrakten (A und B) wiedergegeben, darunter zum Vergleich die unter gleichen Bedingungen aufgenommene Leerwertskurve (Abb. 12 c).

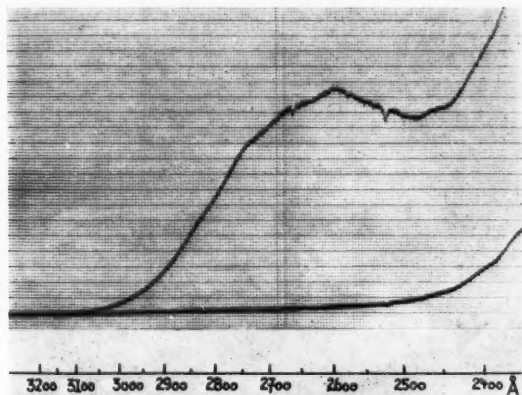


Abb. 11. Registrierkurve eines nach der Methode von O g u r und R o s e n gewonnenen NS-Extraktes. Obere Kurve: Extrakt; untere Kurve: Küvette mit dest. Wasser.

Da alle so gewonnenen Plastidenextrakte in keinem Falle eine typische NS-Absorption erkennen ließen, könnte man hieraus überhaupt auf Abwesenheit von NS in den isolierten Plastiden schließen. Bevor jedoch derartige Folgerungen gemacht werden durften, mußten sämtliche Faktoren, die für diese unerwarteten Ergebnisse verantwortlich sein könnten, überprüft werden. Naheliegend war die Annahme, daß die primär in den Chloroplasten vorhandenen NS im Laufe der Isolation ausgewaschen werden (J a g e n d o r f und W i l d m a n 1954). Um diese Möglichkeit experimentell zu überprüfen, wurde folgender Weg beschritten: Aus den Untersuchungen von L ä r z (1942), H a n s s e n (1947) und S c h m i d t (1951 a und b) geht hervor, daß Alkaloide die Plastidenmembran verdichten können. Die Tatsache, daß mit Alkaloiden behandelte Zellen bei Belichtung vakuolisierte Plastiden erkennen lassen, wird so gedeutet, daß die bei der Photosynthese gebildeten Assimilate nicht mehr durch die Plastidengrenzmembran durchtreten können. Dadurch wird der osmotische Wert des Vakuoleninhaltes stark erhöht. In den Untersuchungen von M u d r a c k (1956) wurde gezeigt, daß sich Plastiden im Homogenat ähnlich verhalten.

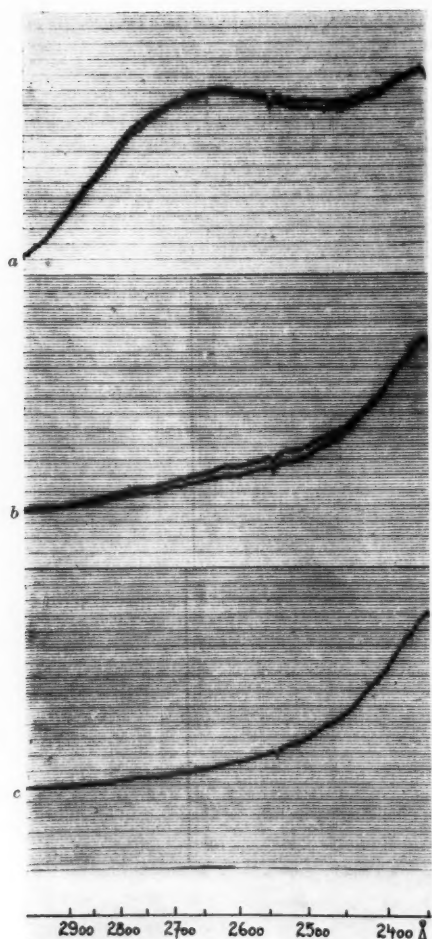


Abb. 12. Registrierkurven. *a* 1 *n* HClO<sub>4</sub>-Extrakt aus Blattmaterial (18 Std. kalt und der gleiche Extrakt 20 Min. bei 70° C gehalten); *b* zwei Plastidenextrakte unterschiedlichen „NS-P“-Gehaltes; *c* Küvette mit dest. Wasser.

denextrakte (vgl. Abb. 12 *b*). Soweit sich also die Frage nach einer Auswaschung von NS aus den Plastiden während des Präparationsganges mit dieser Versuchsanstellung beantworten läßt, spräche dieses Ergebnis ebenfalls gegen die Anwesenheit von NS in den Plastiden.

Wichtig mußte aber auch eine kritische Überprüfung der angewandten

Unter der Voraussetzung, daß bei einer Alkaloidbehandlung eine Verfestigung der Plastidengrenzschicht erreicht wird, d. h. die Permeabilität herabgesetzt wird, könnte man durch Zusatz von Alkaloiden zum Homogenat eine Auswaschung von NS-Substanzen verhindern.

Von den zur Verfügung stehenden Alkaloiden wurde aus spektroskopischen Gründen Atropin (Merck) benutzt. Es konnte gezeigt werden, daß ein Atropinzusatz von 1 : 1000 zu einem Homogenat in 0,4 molarer Glucose in Leitungswasser zu keinerlei Absorptionsstörungen führt, wenn aus zellkernhaltigen Sedimenten in der üblichen Weise NS-Extrakte hergestellt werden. Die Registrierkurven der mikrophotometrischen Auswertung glichen der in Abb. 11 gezeigten. Mit anderen Worten: das zugesetzte Atropin wird bei dem angewandten Extraktionsverfahren nicht bis in die NS-Fraktion verschleppt, denn sonst wäre Atropin durch seine charakteristischen Absorptionsbanden nachweisbar. Somit schien die Verwendung von Atropin für die Klärung vorliegender Frage geeignet zu sein. — Es wurden mehrere Plastidenpräparate aus Homogenaten mit Atropinzusatz 1 : 1000 bis 1 : 2000 hergestellt und der NS-Extraktion unterzogen. Die Registrierkurven unterschieden sich nicht von denen der üblichen Plasti-

NS-Extraktionsmethode selbst sein. Die Tatsache, daß man mit ihr aus Blattmaterial Extrakte mit typischer NS-Absorption gewinnen kann, berechtigt noch nicht dazu, plastidischen NS ein gleiches Verhalten zuzuschreiben. Dieser Analogieschluß, der bei Anwendung dieser Methode auf reine Plastidenfraktionen gemacht wird, ist anfechtbar, da die Plastiden gegenüber anderen Zellbestandteilen eine chemische Sonderstellung einnehmen. Besonders der Lipoidgehalt dürfte zu Komplikationen führen.

In diesem Zusammenhang sind folgende Feststellungen wichtig: Die Extrakte A und B (s. o.) zeigten ebenso wie alle anderen Plastidenextrakte

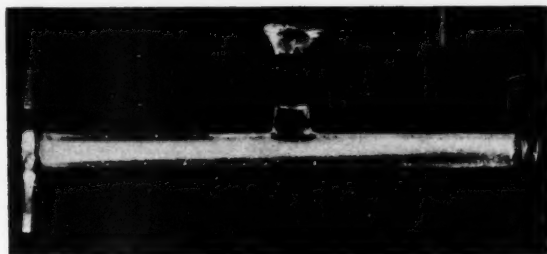


Abb. 13. Plastidenextrakt (Ogur und Rosen) im Strahlengang der Xenonlampe (das Licht tritt von links in die Küvette ein).

im UV-Licht eine starke bläulichweiße Fluoreszenz. In Abb. 13 ist der deutlich gegen die Küvettenwandung abgesetzte Fluoreszenzkegel zu erkennen. Die Extrakte erwiesen sich als zu konzentriert; sie mußten mehrmals verdünnt (1:4) werden, bevor sie in einem Baly-Rohr bei der Schichtdicke  $d = 0,5$  cm spektroskopiert wurden. Erst dann erfolgte auch eine Schwärzung der Photoplatte im kürzerwelligen UV-Bereich. Der Phosphorgehalt in beiden Extrakten, der nach Ogur und Rosen als NS-P angesprochen werden mußte, betrug:

Extrakt	„NS-P“	NS, bez. auf 8% NS-P-Gehalt
A	19,3 $\gamma$	245 $\gamma$
B	8,0 $\gamma$	100 $\gamma$

Setzt man die angenommene Nucleinsäure mit einem P-Gehalt von 8% in Rechnung, so wären die in der Tabelle angeführten Mengen an NS zu erwarten. Die gefundenen „NS-P“-Mengen stehen zueinander im Verhältnis 1:2,5. Wäre dieser Phosphor an NS gebunden, so kämen bei einer Verdünnung 1:4 (s. o.) immerhin noch 24,5  $\gamma$  bzw. 10  $\gamma$  NS auf 1 ml Lösung. Bei der hohen Empfindlichkeit des spektroskopischen NS-Nachweises würden solche NS-Mengen in jedem Falle erfaßt werden. Den unterschiedlichen Mengen an „NS-P“ entsprechen jedoch nur unwesentliche Differenzen in den Registrierkurven (Abb. 12 b). Hieraus folgt, daß die in den Extrakten festgestellten Phosphormengen nicht an NS gebunden sein können, oder

allgemein ausgedrückt, ist in diesem Falle eine Bindung des Phosphors an Stoffe, die in dem Spektralbereich um 2600 Å absorbieren, unwahrscheinlich.

Gegen die Annahme, daß in den Extrakten A und B Stoffe enthalten sind, die die NS-Absorption überdecken, spricht folgende Überlegung: Da für die Gewinnung der Extrakte unterschiedliche Mengen an Plastidenmaterial verwandt wurden, müßten solche Stoffe auch in unterschiedlichen Konzentrationen vorliegen und zu entsprechenden quantitativen Absorptionsdifferenzen in den beiden Extrakten führen. Weiter legte die — gemessen an den gefundenen „NS-P“-Werten — geringe Absorption der Plastidenextrakte A und B die Vermutung nahe, daß die absorbierenden Bausteine der NS — Purine und Pyrimidine — z. T. im Extraktionsrückstand zurückgeblieben sind, während der relativ hohe P-Gehalt in den Plastidenextrakten Substanzen zuzuordnen wäre, die im Spektralbereich von 2900—2500 Å nur wenig absorbieren.

Um Anhaltspunkte hierfür zu gewinnen, wurde der Extraktionsrückstand mit konz.  $\text{HClO}_4$  hydrolysiert und das Hydrolysat papierchromatographisch (Wyatt 1951) untersucht. Ein von dem Papierchromatogramm angefertigtes Photoprint ließ vier schwache „spots“ erkennen.

Die  $R_F$ -Werte (in den Klammern die Literaturwerte der entsprechenden Basen nach Wyatt 1951) betrugen:

1.	0,27	(0,25)	entsprechend Guanin
2.	0,36	(0,36)	„ Adenin
3.	0,56	(0,47)	„ Cytosin
4.	0,70	(0,68)	„ Uracil

Die für Adenin und Uracil gehaltenen Stellen auf dem Papierchromatogramm wurden herausgeschnitten, mit  $n/10$   $\text{HCl}$  eluiert und spektroskopiert. Die Spektren zeigten Ähnlichkeit mit dem Absorptionsverhalten der entsprechenden papierchromatographisch getrennten Basen von Test-RNS, welche mit konzentrierter  $\text{HClO}_4$  hydrolysiert wurde. Wenn gezeigt werden konnte, daß der in Plastidenextrakten enthaltene Phosphor nicht ohne weiteres NS zugeordnet werden darf, auf der anderen Seite mit der hier angewandten Extraktionsmethode Phosphoproteide nicht erfaßt werden (vgl. Originalmethode nach Ogur und Rosen, s. o. Stufe 5), müßte man im Hydrolysat des Extraktionsrückstandes (Stufe 4) der Plastiden weiteren Phosphor erwarten. Nachdem vorher die NS-Basenflecke ausgeschnitten waren, ließ sich auf dem oben beschriebenen Papierchromatogramm mit dem Sprühreagenz nach Hanes und Isherwood (1949) in der Nähe der Lösungsmittelfront eine Phosphorzone feststellen. Auf Papierchromatogrammen von Test-NS konnte der abgespaltene NS-P in ähnlicher Position nachgewiesen werden.

Die Zuordnung des im Extrakt bzw. im hydrolysierten Extraktionsrückstand gefundenen Phosphors zu bestimmten chemischen Verbindungen dürfte auf Grund der bisherigen Befunde sehr schwierig sein. Damit wird aber die Verlässlichkeit der Methode von Ogur und Rosen bei dieser speziellen Anwendung in Frage gestellt. Die Annahme, daß Lipide für diese schwer deutbaren Ergebnisse verantwortlich sind, erhielt durch mikro-



skopische Untersuchungen an den extrahierten Plastidenkörpern eine gewisse Berechtigung. Da diese kompakt bleiben, ist es denkbar, daß unvollständig extrahierte Lipide in den Plastiden vorhandene NS maskieren und somit die Extraktion erschweren bzw. die UV-Absorption stören. Um Anhaltspunkte für noch vorhandene Lipide zu erlangen, wurden verschiedene Färbungsmethoden angewandt. Mit Sudanschwarz und Sudan III (Romeis 1948) ließen sich keine Anfärbungen erzielen. Wurden dagegen die Plastidenrestkörper in Rhodamin B (Strugger 1937a und b, 1949) suspendiert, so zeigten sie eine deutliche homogene Färbung und boten somit einen Hinweis für Lipide.

In mehreren Versuchen wurde die im Rahmen der Methode von Ogur und Rosen (Stufe 2, Seite 525) vorgeschriebene Lipoidextraktion variiert. Hierbei wurden Kombinationen mehrerer Lipoidlösungsmittel wie Aceton und Äthanol (2:1) oder Chloroform und Methanol (4:1) unter verschiedenen Bedingungen (Zimmertemperatur, Kälte, Siedehitze, unterschiedliche Dauer) in den Arbeitsgang eingeschaltet. Die dann gewonnenen  $\text{HClO}_4$ -Extrakte ließen aber in keinem Falle die typische NS-Absorption im UV-Licht erkennen.

Schließlich wurde die von Holden (1952) variierte Methode von Ogur und Rosen überprüft. Der Unterschied zur Originalmethode besteht darin, daß vor der Lipoidextraktion durch Äther-Äthanol mit 0,2  $n$   $\text{HClO}_4$  behandelt wird; hierdurch soll die Lipoidextraktion erleichtert werden. Außerdem erfolgt die NS-Extraktion 18 Std. bei 37° C. Das Plastidenmaterial wurde in folgender Weise aufgearbeitet:

1. Chlorophyllextraktion mit Aceton,
2. zweimalige kalte Extraktion mit 0,2  $n$   $\text{HClO}_4$  (möglichst rasch),
3. Rückstand von 2. mit Äther-Äthanol (1:3) drei Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt und anschließend zweimal mit dem gleichen Lösungsmittel je 5 Minuten gekocht,
4. Rückstand von 3. mit 1  $n$   $\text{HClO}_4$  18 Std. bei 37° C im Thermostaten und
5. Rückstand von 4. 20 Minuten mit 1  $n$   $\text{HClO}_4$  bei 70° C extrahiert.

Die Extrakte von Punkt 4 und 5 wurden spektroskopisch geprüft. Beide zeigten eine unspezifische UV-Absorption; sie unterschieden sich nur quantitativ, wobei der Extrakt 4 (Abb. 14) stärker absorbierte. Um festzustellen, ob in diesen Extrakten tatsächlich NS vorlag, wurde eine papierchromatische Analyse durchgeführt:

Die Extrakte 4 und 5 wurden vereinigt und im Vakuum von  $10^{-1}$  Torr bei Zimmertemperatur eingengt. Die Evakuierung erfolgte mit der Öldiffusionspumpe einer Gefriertrocknungsanlage (Leybold, Modell G 1 b). Die  $\text{HClO}_4$ -Konzentration der eingengten, viskosen, leicht bräunlichen Flüssigkeit betrug ca. 70%. Hierauf konnte aus dem Vergleich der Volumina der Ausgangslösung (10%ige  $\text{HClO}_4$ ) und der eingengten Lösung geschlossen werden. Anschließend wurde bei geschlossenem Gefäß eine Stunde im siedenden Wasserbad hydrolysiert. Das abgekühlte Hydrolysat wurde mit wenig Wasser verdünnt, von der schwarzen Masse abzentrifugiert und dann tropfenweise mit 1  $n$  KOH bis zum pH-Wert 4 versetzt. Das ausgefallene  $\text{KClO}_4$  wurde abzentrifugiert, mit wenig 1  $n$  HCl nachgewaschen und die Waschflüssigkeit mit dem Hydrolysat vereinigt. Diese Lösung wurde dann i. V. bei Zimmertemperatur eingengt.

Auf dem Photoprint des angefertigten Papierchromatogramms ließen sich 5 „spots“ feststellen mit folgenden  $R_F$ -Werten (in Klammern die  $R_F$ -Werte von Wyatt 1951 und Marshak und Vogel 1950):

1.	0,27	(0,25; 0,27)
2.	0,40	(0,36; 0,40)
3 a.	0,52	(0,47; 0,47)
3 b.	0,57	
4.	0,70	(0,68; 0,68)

Bei dem Vergleich mit den  $R_F$ -Werten der Literatur ist keine völlige Übereinstimmung festzustellen. Abgesehen davon, daß schon die oben ange-

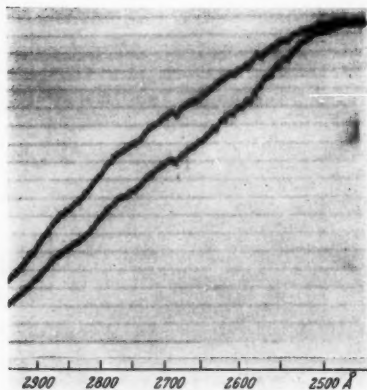


Abb. 14. Registrierkurven eines Plastidenextraktes (nach Holden), in zwei Filterstufen photometriert.

gegebenen Literaturwerte Schwankungen aufweisen, muß in diesem speziellen Falle folgendes berücksichtigt werden: Die Literaturangaben beziehen sich auf Nucleinsäuren, die meist in gereinigter Form vorliegen. Außerdem verwendet man genügend Ausgangsmengen für die Hydrolyse, so daß man von dem verdünnten Hydrolysat nur sehr kleine Volumina für die papierchromatographischen Trennungen benötigt. Bei der hier beschriebenen Analyse mußte jedoch wegen der von vornherein zu erwartenden geringen NS-Mengen das gesamte Hydrolysat für eine Trennung verwandt werden. Dabei können aber Nebenprodukte der Hydrolyse sowie anorganische

Salze die Wanderungsgeschwindigkeit der Basen beeinflussen. Bei Berücksichtigung dieser Faktoren kann mit einiger Sicherheit auf das Vorhandensein der NS-Basen Guanin, Adenin und Uracil geschlossen werden. Unklar liegen die Verhältnisse bei den „spots“ im Bereiche des Cytosins. Es ließe sich annehmen, daß Cytidylsäure unvollständig zu Cytidin hydrolysiert wurde. Es kann aber auch 5-Methylecytosin vorliegen.

Die entsprechenden  $R_F$ -Werte der Literatur (Wyatt 1951) für diese Stoffe betragen:

Cytosin	0,47
5-Methylecytosin	0,55
Cytidin	0,50
Cytidylsäure	0,61

Zur weiteren Klärung wurden die Absorptionsverhältnisse der als Purine und Pyrimidine angesehenen Substanzen untersucht. Die mit Hilfe des Photoprints (Abb. 15) lokalisierten Flecke wurden aus dem Papierchromatogramm ausgeschnitten, in schmale Streifen zerlegt und anschließend 18 Stunden eluiert. Die Flecke 1 und 2 wurden mit 5 ml 1 *N* HCl und die Flecke

3 a + b und 4 mit 5 ml 0,1 *n* HCl extrahiert. Von einem Leerchromatogramm wurden entsprechende Vergleichslösungen angefertigt. Für die UV-Messungen stand in diesem Fall ein Spektralphotometer zur Verfügung. In Abb. 16 sind die gegen Vergleichslösungen bei einer Schichtdicke von 0,5 cm ermittelten Absorptionskurven wiedergegeben. Die Absorptionsmaxima liegen sämtlich um 2600 Å; eine völlige Übereinstimmung mit den in der Literatur angegebenen Maxima ließ sich nicht in allen Fällen feststellen (vgl. Markham 1955). Da aus der Wanderungsgeschwindigkeit der cytosinartigen Substanzen eventuell auch mit dem Vorkommen von 5-Methyleytosin zu rechnen war, diese Base bisher aber nur bei pflanzlicher DNS (Wyatt 1950) gefunden wurde, so könnte man sie als Hinweis für DNS werten. Dann müßte aber auch Thymin auf dem Papierchromatogramm nachweisbar sein. Obwohl kein dem Thymin entsprechender „spot“ auf dem Photoprint sichtbar war, wurde aus dem Papierchromatogramm eine Fläche mit dem  $R_F$ -Wert 0,77 ausgeschnitten und eluiert (5 ml 0,1 *n* HCl). In diesem Extrakt ließ sich jedoch keine Absorption bei 2600 Å feststellen, sondern nur ein unspezifisches Maximum bei 2300 Å. Aus diesen Befunden konnte somit auf eine Nucleinsäure des RNS-Typs geschlossen werden.

Bei den weiteren Untersuchungen wurde auf die Extraktion der NS verzichtet. In Anlehnung an die von Marshak und Vogel (1950, 1951) entwickelte Methode wurde das Plastidenmaterial mit konz.  $\text{HClO}_4$  hydrolysiert und die dabei abgespaltenen NS-Basen papierchromatographisch getrennt. Vorher mußten jedoch störende Stoffe weitgehend entfernt werden, eine Notwendigkeit, die sich aus den Vorversuchen ergab, bei denen Plastidenpräparate nach der Methode von Ogur und Rosen bis einschließlich der Stufe 2 des Arbeitsganges (Seite 525) extrahiert und dann mit konz.  $\text{HClO}_4$  hydrolysiert wurden. Auf den Papierchromatogrammen traten insgesamt fünf grünlich fluoreszierende, z. T. langgezogene Flecke auf, die die zu erwartenden NS-Basen überdeckten. Die bei der Methode von Ogur und Rosen (1950) vorgesehene Lipoidextraktion genügte offensichtlich nicht, um diese störenden Stoffe zu entfernen. Im Folgenden wurde daher das Plastidenmaterial ähnlich behandelt wie das lipoidreiche *Mycobacterium tuberculosis* in den Untersuchungen von Marshak und Vogel (1951). An Stelle des von diesen Autoren benutzten Benetzungsmittels „Tween“ wurde Laurylalkoholpolyglykoläther (Chemische Werke Hüls, Marl/Recklinghausen) verwendet. Die stark oberflächenaktive Wirkung dieses Stoffes ließ eine bessere Extraktion der Plastiden mit den jeweiligen Lösungsmitteln erhoffen. Nach mehreren Vorversuchen wurde das Plastidenmaterial wie folgt behandelt:

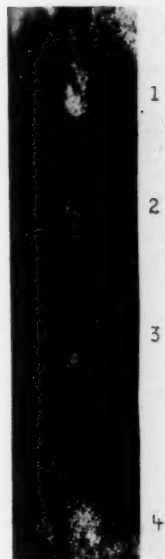


Abb. 15. Photoprint eines Papierchromatogramms mit dem Hydrolysat eines eingeengten Plastidenextraktes Holden, vgl. Abb. 14).

1. Die Plastiden wurden zweimal mit einer 1%igen Lösung von Laurylalkohol-polyglykoläther in der Kälte gewaschen.

2. Anschließend wurde mit Aceton-Äthanol (1:1) nachgewaschen und im gleichen Lösungsmittel über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt. Dann wurden die Plastiden mit dem gleichen Lösungsmittel zweimal je eine Stunde am Rückfluß

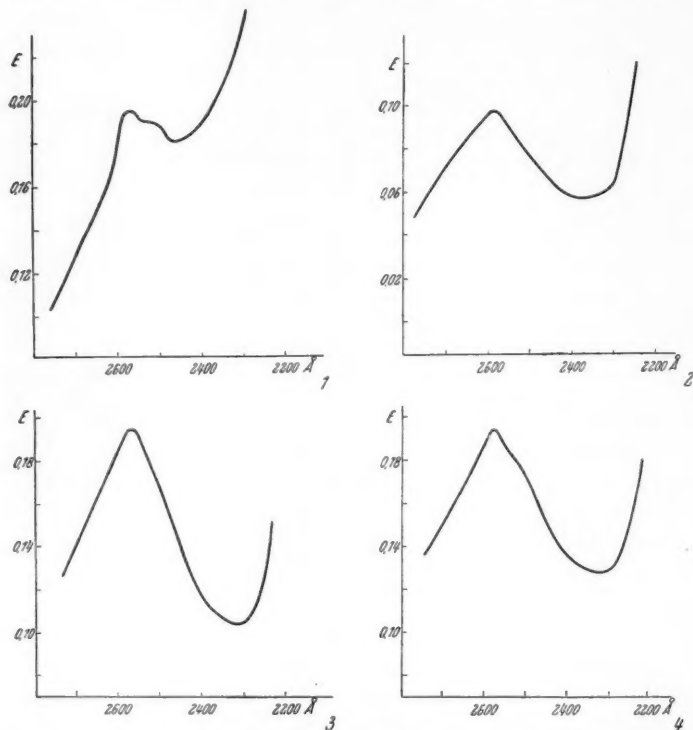


Abb. 16. Absorptionskurven der Eluate des Papierchromatogramms entsprechend Abb. 15. Die Messungen erfolgten mit dem Spektralphotometer M 4 Q Zeiss.

extrahiert. Zu diesem Zweck wurde auf das Zentrifugenglas ein langes Siederohr aufgesetzt und in einem Wasserbad erwärmt.

3. Der Rückstand von 2. wurde zweimal mit 96%igem Äthanol und einmal mit 96%igem Äthanol + 0,1%  $\text{HClO}_4$  behandelt und schließlich mit Äther-Äthanol (1:3) zweimal je 5 Minuten gekocht. Dann wurde der Extraktionsrückstand zweimal je 20 Minuten mit 7%iger Trichloressigsäure bei  $0^\circ\text{C}$  unter ständigem Rühren extrahiert. Zur besseren Benetzung wurde diese Säure mit dem Laurylalkoholderivat versetzt (1,5 ml Trichloressigsäure + 0,1 ml 1%ige wäßrige Lösung des Netzmittels). Darauf wurde mit 96%igem Äthanol und schließlich mit dem Äther-Äthanol-Gemisch (1:3) nachgewaschen.

4. Der im Vakuum getrocknete Rückstand wurde in bekannter Weise mit 70%iger  $\text{HClO}_4$  hydrolysiert und papierchromatographisch analysiert.

Die Photoprints solcher chromatographischen Trennungen zeigten immer 4 „spots“, die in keinem Falle Hinweise für das Vorkommen von Thymin boten. Die für Guanin, Adenin und Uracil sprechenden Flecke wiesen nur geringe Abweichungen von den  $R_F$ -Werten in der Literatur auf. Lediglich bei der im Bereich des Cytosins liegenden Substanz waren Schwankungen der  $R_F$ -Werte von 0,47 bis 0,56 festzustellen. Im Gegensatz zu den obigen Befunden trat hier immer nur ein „spot“ auf. Die einzelnen Flecke wurden in bekannter Weise aus dem Papierchromatogramm ausgeschnitten und mit HCl eluiert. In Abb. 17 sind die Registrierstreifen der mit dem Spektrophographen Qu 24 aufgenommenen Spektren der Eluate wiedergegeben. Mit Rücksicht auf den Schwärzungsgrad der Spektralplatten wurden die photometrischen Registrierungen in je zwei Filterstufen vorgenommen. Aus den Registrierkurven konnte unter den beschriebenen Voraussetzungen auf eine Absorption im kritischen Spektralbereich um 2600 Å geschlossen werden. — In Übereinstimmung mit den bisherigen Befunden wurde also auch an hydrolysierten Chloroplasten mit Hilfe der Papierchromatographie in Verbindung mit spektroskopischen Methoden das Vorkommen von RNS wahrscheinlich gemacht.

### Besprechung der Ergebnisse

Bei der Darstellung von Zellorganellen durch Differentialzentrifugation zum Zwecke einer chemischen Analyse muß man sich zwangsläufig mit cytologischen und biochemischen Gesichtspunkten auseinandersetzen. Dem hohen Wert und der Verlässlichkeit biochemischer Methoden steht bei ihrer Anwendung auf isolierte Zellorganellen ein großer Unsicherheitsfaktor bezüglich des Reinheitsgrades und sekundärer Veränderungen an den Zellorganellen entgegen. Cytologische Untersuchungen müssen die Basis bilden für solche biochemischen Analysen. Im Falle der Chloroplasten hat man immerhin den Vorteil, daß sie den Isolationsprozeß soweit gut überstehen, daß man sie im Homogenat als solche identifizieren kann. Im allgemeinen verwendet man isotonische bzw. hypertonische Zuckerlösungen als Medium. Auf die mit der Verwendung wäßriger Lösungen verbundenen Gefahren wurde öfters aufmerksam gemacht. Es fehlt aber bislang an einem geeigneteren Medium. Die von McClendon und Blinks (1952) mit Erfolg bei der Isolation von Rhodoplasten mariner Rhodophyceen verwandten „Carbowax“-Präparate führen bei Chloroplasten höherer Landpflanzen zu unbefriedigenden Ergebnissen (McClendon 1954, Mudrack 1956). Gänzlich abzulehnen sind Isolationsversuche in hypotonischen Medien, in denen es zur Plasmolyse der Plastiden kommt. Dabei frei werdende grüne Partikeln werden oft unkritisch als „Grana“ bezeichnet (Literatur bei Weier und Stocking 1952 a, Weier 1953). Aber auch dann, wenn man mit kompakt gebliebenen isolierten Chloroplasten arbeitet, sind immer noch zahlreiche Fehlerquellen zu berücksichtigen (Weier 1953). Diese werden deutlich bei dem Vergleich enzymologischer Untersuchungen verschiedener Autoren an isolierten Plastiden (Weier und Stocking 1952, Metzner 1954).

Widersprechende und abweichende Ergebnisse finden ihre Erklärung

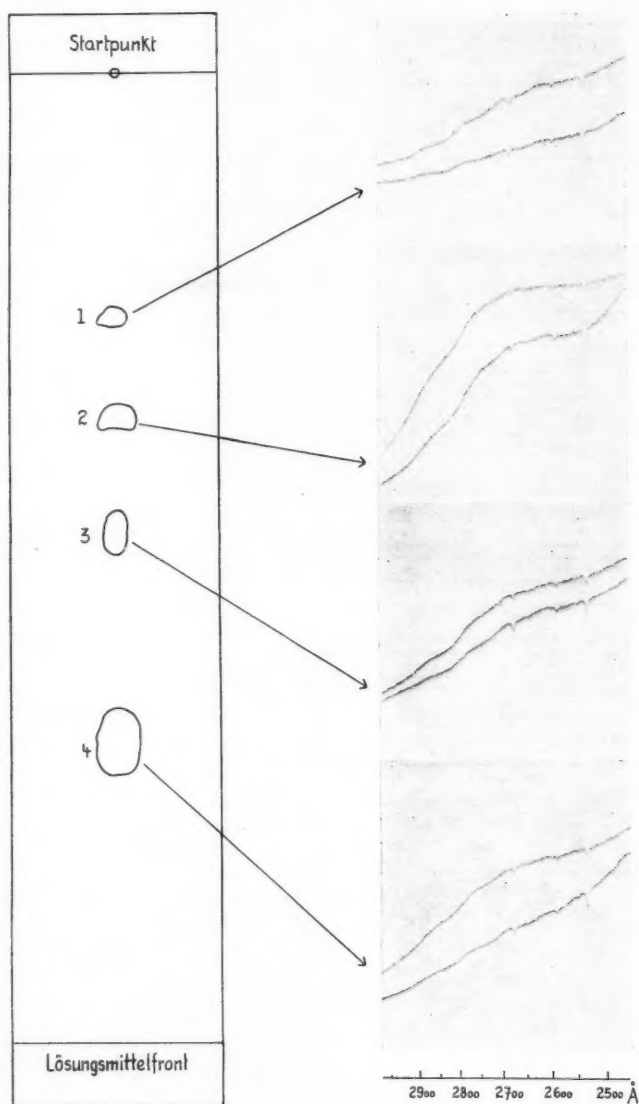


Abb. 17. Papierchromatogramm eines Plastidenhydrolysates (Pause des Photo-  
prints) mit den Registrierkurven der eluierten „spots“.



durch Adsorption von Enzymen an die Plastiden bzw. durch Beimengungen andersartiger Fermentträger. Auch bei Untersuchungen über den NS-Gehalt isolierter Chloroplasten sind genügend Anlässe zu Irrtümern gegeben (McClendon 1952, Weier und Stocking 1952, Jagendorf und Wildman 1954). Angesichts dieser Schwierigkeiten sind „methodische Fortschritte heute weit willkommener als immer neue Versuche mit den alten Hilfsmitteln“ (Metzner 1954). So konnte in den vorliegenden Untersuchungen gezeigt werden, daß man durch den Zusatz eines Adsorptionsmittels (Aktivkohle) zum Homogenat manchen Einwänden begegnen oder sie abschwächen kann. Bei der Beseitigung von Zellkernresten erwies sich der Kohlezusatz in Verbindung mit anschließender Filterung als günstig. Jagendorf und Wildman (1954) konnten ebenfalls durch mehrfache Filterung (Papierfilter) Verluste an DNS in ähnlichen Größenordnungen feststellen. Gemessen aber an der hohen Einbuße stickstoffhaltiger Substanzen (Eiweißkörper) in sedimentierbarer und gelöster Form, tritt der Vorteil der Aktivkohlebehandlung deutlich hervor. In diesem Zusammenhang wäre auch zu prüfen, ob eine zweckmäßige Abwandlung der von Riley, Hesselbach, Fiala und Mitarbeitern (1949) ausgearbeiteten chromatographischen Methode für die Darstellung von Chloroplasten herangezogen werden kann.

Wenn bei den Zentrifugationen auch das Prinzip von Wilbur und Anderson (1951) angewandt wurde, so könnte man durch Verwendung von Medien größerer Dichte bei entsprechender Zentrifugationsgeschwindigkeit die Trennung von Zellbestandteilen noch weiter vorantreiben. Es sei auf die Untersuchungen von Jagendorf (1955) hingewiesen. Bei dem Versuch, Chloroplasten — besonders solche aus jungen Blättern — in reiner Form darzustellen, geht dieser Autor folgendermaßen vor: Ein Homogenat aus Spinatblättern in gepufferter Saccharoselösung (1/15 molarer Phosphatpuffer, pH 7,4; 0,4 molare Saccharose) wird bei 1000 g zentrifugiert. Dieses Sediment, die sogenannte „crude particle“-Fraktion, wird mit dem gleichen Medium wieder aufgenommen und in bestimmten Anteilen mit konzentrierter Saccharoselösung und Glycerin vermischt. Bei Anwendung hoher Zentrifugationsgeschwindigkeiten (40.000 UpM) steigen die Plastiden auf, während cytoplasmatische Beimengungen sich als „bottom pellet“ niederschlagen. Durch Variation der Glycerinzugabe wird den jeweiligen Dichteunterschieden der Chloroplasten junger und alter Blätter Rechnung getragen. Diese „density technique“ kann sicherlich die Abtrennung von Beimengungen erleichtern, jedoch gibt die starke Hypertonie des Mediums zu denken.

Für den spektroskopischen Nachweis von NS in Plastiden scheint die in der beschriebenen Form angewandte Extraktionsmethode von Ogor und Rosen (1950) ungeeignet zu sein. Diese Methode mag ihre Gültigkeit bei nichtplastidischen NS haben. Markham (1955) macht darauf aufmerksam, daß aus pflanzlichem Material nach dieser Methode gewonnene  $\text{HClO}_4$ -Extrakte „may not only contain absorbing material derived from the nucleic acids“. Hierfür sprechen auch eigene Befunde, wonach  $\text{HClO}_4$ -Extrakte — gleichgültig ob aus unreinen Sedimenten oder aus Plastidenpräparaten gewonnen — im UV-Licht immer Fluoreszenz erkennen lassen. Lösungen

von Test-NS dagegen zeigen diese Erscheinung nur in sehr geringem Maße. Vermutlich sind hierfür Plastideninhaltsstoffe verantwortlich zu machen. Daß in den stark fluoreszierenden Extrakten aus Plastiden trotz unspezifischer UV-Absorption doch NS vorhanden sein kann, wurde gezeigt. Auf der anderen Seite ist aber auch mit der Möglichkeit zu rechnen, daß die andersartige chemische Natur der Plastiden keine völlige Extraktion der NS zuläßt. Für diese Annahme konnten Hinweise gewonnen werden.

Diese Befunde gelten zunächst für die Verhältnisse bei Plastiden von Endivienblättern. Jagendorf und Wildman (1954) und Jagendorf (1955) machten bei ihren Untersuchungen an Tabakblättern ähnliche Feststellungen; in keinem Falle ließ sich bei Plastidenextrakten eine klare NS-Absorption im UV-Licht nachweisen, sie „showed only a shoulder at 260 m $\mu$  in the otherwise smooth ultraviolet absorption curve“. McCleendon (1952) macht keine Angaben über das Absorptionsverhalten von aus reinen Plastidenfraktionen gewonnenen Extrakten. Wenn aber quantitative NS-Bestimmungen unter der Annahme durchgeführt werden, daß der gesamte im NS-Extrakt (Ogur und Rosen) vorhandene Phosphor und eine UV-Absorption bei 2600 Å ohne Berücksichtigung des Absorptionsverlaufes nur für NS zu sprechen haben, so ist ein solches Vorgehen nicht berechtigt. Andererseits ist der in NS-Extrakten aus Endivienplastiden festgestellte „NS-P“-Gehalt keineswegs extrem hoch, sondern er liegt in derselben Größenordnung wie in der Literatur angegeben (Granick 1955). Durch Überschlagrechnung beläuft sich der „NS-P-Gehalt“ auf 0,2 bis 0,3%, bezogen auf das Trockengewicht der Plastiden.

Erst dann, wenn es gelingt, in weiteren Untersuchungen eine NS-Extraktionsmethode zu entwickeln, die der chemischen Eigenart der Plastiden gerecht wird und einer spektroskopischen Kritik standhält, sind quantitative Angaben über den NS-Gehalt der Plastiden angebracht. Die angeführten spektroskopischen Untersuchungen mußten sich aus technischen Gründen nur auf die notwendigsten Messungen beschränken. Für die Entwicklung einer neuen Methode oder die Überprüfung anderer bekannter Extraktionsmethoden, z. B. die von Schmidt und Thannhauser (1945) oder Schneider (1945), sind Experimente auf breiterer Basis notwendig. Den bislang bekannten Untersuchungen an Plastiden liegen meistens Phosphorbestimmungen zugrunde. Diese können erst dann als Nachweis für vorhandene Nucleinsäuren angesprochen werden, wenn parallel dazu einwandfreie absorptionspektroskopische Kontrollen durchgeführt werden. Die von Sisakjan und Cernjak (1952) angewandte lumineszenzoptische Methode, die von der Affinität der NS zu Acridinorange ausgeht, kann bestenfalls als indirekter NS-Nachweis gelten.

In den vorliegenden Untersuchungen konnte durch Anwendung der Papierchromatographie in Verbindung mit der Absorptionsspektroskopie das Vorkommen von RNS in isolierten Chloroplasten wahrscheinlich gemacht werden. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit den Befunden der Literatur (Sammelreferat von Granick 1955). Cytochemische Nachweise von DNS in Chloroplasten werden oft angezweifelt (Sisakjan und Cernjak 1952). Mit Recht macht auch McCleendon (1953) darauf auf-

merksam, daß sich die in grünen Blättern enthaltene RNS gegenüber Extraktionsmitteln teilweise ähnlich verhält wie DNS (vgl. auch Holden 1952). In Proplastiden fand Spiekermann (1957) durch Anwendung cytochemischer und fermentativer (Nucleasen) Methoden RNS und DNS. Vermutlich geht dem Differenzierungsprozeß von den Proplastiden bis zu den fertigen Chloroplasten ein Verlust an DNS parallel. Ganz allgemein ist zu erwarten, daß junge, noch nicht voll ausdifferenzierte Plastiden einen höheren NS-Gehalt aufweisen. Für diese Annahme sprechen die vergleichend biochemischen Untersuchungen von Sisakjan und Odjinzowa (1954, vgl. auch das Referat von Sisakjan 1956). Einer Isolierung junger Plastiden oder gar Proplastiden stehen experimentelle Schwierigkeiten entgegen. Diese sind durch die Labilität dieser Formen bedingt und andererseits werden die geringe Größe und Dichte dieser Zellorganellen eine Verunreinigung der Fraktionen durch Chondriosomen und Sphärosomen zur Folge haben.

Es wäre wichtig festzustellen, wie weit die UV-mikrophotometrische Methode von Caspersson (1940) für den NS-Nachweis in Chloroplasten in der Zelle geeignet ist. Daß Chloroplasten kurzwelliges Licht zu absorbieren vermögen, ist bekannt (Menke 1940; Rabinowitch 1945; Frey-Wyssling und Mitarb. 1955). In eigenen Untersuchungen konnten diese Feststellungen an isolierten Einzelchloroplasten von *Peperomia metallica* (Lind. und Rod.) und *Asplenium nidus* (L.) mit Hilfe des Quarzspektrographen Qu 24 (Zeiss) bestätigt werden. Die Tatsache aber, daß Chloroplasten bei monochromatischer Bestrahlung im Absorptionsschwerpunkt der NS eine Absorption aufweisen (Menke 1940; Frey-Wyssling und Mitarb. 1955), ist noch kein Beweis für tatsächlich vorhandene Nucleinsäuren. Erst dann, wenn man den Gesamtabsorptionsverlauf der UV-absorbierenden Substanzen in den Plastiden kennt, dürfte man auf NS schließen. Hierbei muß aber darauf hingewiesen werden, daß nach zahlreichen Untersuchungen (Metzner 1951, dort Literaturzusammenstellung) in den Chloroplasten — besonders in den Grana — Ascorbinsäure angenommen wird. Diese hat aber eine ähnliche UV-Absorption wie Nucleinsäuren (Mohler und Lohr 1938).

### Zusammenfassung

Zum Nachweis von Nucleinsäuren (NS) in isolierten Chloroplasten wurden die während der Homogenisation und im Homogenat auftretenden störenden Faktoren berücksichtigt. Es wurde Wert auf einen optimalen Erhaltungszustand der Plastiden und vollständige Entfernung NS-haltiger Zellbestandteile — besonders Zellkerne und Kernbruchstücke — gelegt. Zur Vermeidung störender Adsorptionen wurde das Homogenat mit einem Adsorptionsmittel (Aktivkohle) behandelt und dabei wurden für die Plastidenisolierung günstige Wirkungen erzielt: Es ließ sich mit biochemischen und cytochemischen Methoden eine Verschiebung des Verhältnisses von Chloroplasten zu Zellkernmaterial zugunsten der Chloroplasten, eine einheitlichere Sedimentation des Zellkernmaterials und eine Adsorption sedimentierbarer und gelöster Eiweißkörper an die Kohle feststellen.

Die nach dem beschriebenen Verfahren isolierten Plastiden wurden nach der NS-Extraktionsmethode von O g u r und R o s e n aufgearbeitet. Die Anwendung dieser Methode erwies sich aus spektroskopischen Gründen als unbefriedigend. Durch papierchromatographische und spektroskopische Untersuchungen wurden nach Hydrolyse mit konz.  $\text{HClO}_4$  Purine und Pyrimidine nachgewiesen, die das Vorkommen von RNS in den isolierten Chloroplasten von *Cichorium endivia* wahrscheinlich machen.

#### Literatur

- Arnon, D. I., 1949: Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenol oxidase in *Beta bulgaris*. Plant Physiol. 24, 1.
- Belozersky, A. N., 1936: Biochemija 1, 235 (russ. m. engl. Zusammenf.), zit. von H. Metzner 1952 b.
- Bencze, B., 1949: Ein neuer Apparat zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl. Z. analyt. Chemie 129, 125.
- Berenblum, I., und E. Chain, 1958: An improved method for the colorimetric determination of phosphate. Biochem. J. 52, 295.
- Caspersson, T., 1940: Methods for the determination of the absorption spectra of cell structures. J. Roy. Microsc. Soc. 60, 8.
- Chiba, Y., 1951: Cytochemical studies on chloroplasts. I. Cytologic demonstration of nucleic acids in chloroplasts. Cytologia (Tokyo) 16, 259; Ref. Ber. wiss. Biol. 81, 202 (1953).
- Chibnall, A., 1939: Protein metabolism in the plant. Yale University Press, New Haven.
- Dische, Z., 1930: Über einige neue charakteristische Farbreaktionen der Thymonukleinsäure und eine Mikromethode zur Bestimmung derselben in tierischen Organen mit Hilfe dieser Reaktionen. Mikrochemie 8, 4.
- Di Stefano, H. S., 1952: Perchloric acid extraction of ribose nucleic acid from cytological preparations. Science 115, 516.
- Euler, H., von, und L. Hahn, 1948: Nukleinsäure-Gehalt grüner Blätter II. Arkiv Kemi, Mineral. Geol. 26 A, No. 11, 1.
- Fischer, R., 1930: Über den Saponinnachweis in der Pflanze mit Blutgelatine. Sber. Akad. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl. Abt. I, 139, 321.
- Frey-Wyssling, A., F. Ruch und X. Berger, 1955: Monotrope Plastiden-Metamorphose. Protoplasma 45, 97.
- Granick, S., 1938: Quantitative isolation of chloroplasts from higher plants. Amer. J. Bot. 25, 558.
- 1950: The chloroplasts: their structure, composition, and development. In „Photosynthesis in plants“, 2. Aufl. Franck, J. u. W. E. Loomis, Iowa State College Press, Ames, Iowa.
- 1955: Plastid structure, development and inheritance. Handbuch der Pflanzenphysiologie, Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 1, 507.
- Hanes, C. S., und F. A. Isherwood, 1949: Separation of the phosphoric esters on the filter paper chromatogram. Nature 164, 1107.
- Hannssen, E., 1947: Untersuchungen über die Einwirkung von Alkaloiden und einigen Anaesthetica auf die Pflanzenzelle. Diss. Techn. Hochschule Hannover 1947.
- Heilingner, F., 1954: Untersuchungen über die Desoxyribonukleinsäure bei Bakterien. Beitr. Biol. Pflanze (Laibach) 30, 179.
- Holden, M., 1952: The fractionation and enzymatic breakdown of some phosphorus compounds in leaf tissue. Biochem. J. 51, 453.

- Huiskamp, W., 1901: Über die Eiweißkörper der Thymusdrüse. *Z. Physiol. Chem.* 32, 145.
- Jagendorf, A. T., und S. G. Wildman, 1954: The proteins of green leaves. II. Centrifugal fractionation of tobacco leaf homogenates und some properties of isolated chloroplasts. *Plant Physiol.* 29, 270.
- Jagendorf, A. T., 1955: Purification of chloroplasts by a density technique. *Plant Physiol.* 30, 138.
- Kern, H., 1956: Über das Vorkommen von Nucleinsäuren in isolierten Chloroplasten. Diss. Münster.
- Lärz, H., 1942: Beiträge zur Pathologie der Chloroplasten. *Flora* 155, 319.
- Leyon, H., 1954: The structure of chloroplasts. VI. The origin of the chloroplast laminae. *Exper. Cell Res.* 7, 609.
- Markham, R., 1955: Nucleic acids, their components and related compounds. In K. Paech u. M. V. Tracey: *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, Bd. 4, 246, Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg.
- Marshak, A., und H. J. Vogel, 1950: Quantitative micro-analysis of nucleic acid, purine and pyrimidines without prior isolation of the nucleic acids. *Fed. Proc.* 9, 85.
- 1951: Microdetermination of purines and pyrimidines in biological materials. *J. biol. Chem. (Am.)* 189, 597.
- McClendon, J. H., 1952: The intracellular localisation of enzymes in tobacco leaves. I. Identification of components of the homogenate. *Amer. J. Bot.* 39, 275.
- 1953: II. Cytochrome oxidase, catalase, und polphenol oxidase. *Amer. J. Bot.* 40, 260.
- 1954: The physical environment of chloroplasts as related to their morphology and activity in vitro. *Plant. Physiol.* 29, 448.
- und L. R. Blinks, 1952: Use of high molecular weight solutes in the study of isolated intracellular structures. *Nature* 170, 577.
- Mejbaum, W., 1939: Über die Bestimmung kleiner Pentosemengen insbesondere in Derivaten der Adenylsäure. *Z. physiol. Chemie* 258, 117.
- Menke, W., 1938: Untersuchungen der einzelnen Zellorgane in Spinatblättern auf Grund präparativ-chemischer Methodik. *Z. Bot.* 32, 273.
- 1939: Untersuchungen über das Protoplasma grüner Pflanzenzellen. I. Isolierung von Chloroplasten aus Spinatblättern. *Z. physiol. Chemie* 257, 43.
- 1940: Die Lamellarstruktur der Chloroplasten im ultravioletten Licht. *Naturw.* 28, 158.
- Metzner, H., 1951: Die Reduktion wäßriger Silbernitratlösungen durch Chloroplasten und andere Zellbestandteile. *Protoplasma* 41, 129.
- 1952 a: Über den Nachweis von Nucleinsäuren in den Chloroplasten höherer Pflanzen. *Naturw.* 39, 64.
- 1952 b: Cytochemische Untersuchungen über das Vorkommen von Nucleinsäuren in Chloroplasten. *Biol. Zbl.* 71, 257.
- 1954: Enzymologie der Plastiden. *Z. Bot.* 42, 473.
- Mirsky, A. E., und A. W. Pollister, 1946: Chromosin, a desoxyribose nucleoprotein complex of the cell nucleus. *J. Gen. Physiol. (Am.)* 30, 117.
- Mohler, H., und H. Lohr, 1938: Spektren von l-Ascorbinsäure, Oxytetronsäure, Reduktinsäure und a-Crotonsäure. *Helv. Chim. Acta* 21, 485.
- Mudrack, K., 1956: Experimentelle Untersuchungen an isolierten Chloroplasten. *Protoplasma* 46, 356.
- Mühlethaler, K., 1955: Untersuchungen über die Struktur und Entwicklung der Proplastiden. *Protoplasma* 45, 264.

- Ogur, M., and G. Rosen, 1950: The nucleic acids of plant tissues. I. The extraction and estimation of desoxypentose nucleic acid and pentose nucleic acid. *Arch. Biochem.* 25, 262.
- Ohlmeier, P., 1949: Experimentelle Bindung von Eiweißkörpern an Zellkerne und Nucleinsäuren. *Z. Naturforsch.* 4b, 263.
- Rabinowitch, E., 1945: Photosynthesis and related processes. Interscience Publishers, Inc. New York.
- Riley, V. T., M. L. Hesselbach, S. Fiala, M. W. Woods, and D. Burd, 1949: Application of chromatography to the separation of subcellular, enzymatically active granules. *Science* 109, 361.
- Romeis, B., 1948: *Mikroskopische Technik*. München, 15. Aufl.
- Schmidt, G., und S. J. Thannhauser, 1945: A method for the determination of desoxyribonucleic acid, ribonucleic acid, phosphoproteins in animal tissues. *J. biol. Chem. (Am.)* 161, 83.
- Schmidt, H. H., 1951a: Studien zur experimentellen Pathologie der Chloroplasten. I. Untersuchungen über die Vakuolenbildung der Chloroplasten durch Alkaloide und Anaesthetica. *Protoplasma* 40, 209.
- 1951b: Studien zur experimentellen Pathologie der Chloroplasten. II. Untersuchungen über die Streifen- und Näpfchenbildung der Chloroplasten. *Protoplasma* 40, 507.
- Schneider, W. C., 1945: Phosphorus compounds in animal tissues. I. Extraction and estimation of desoxypentose nucleic acid and of pentose nucleic acid. *J. biol. Chem. (Am.)* 161, 293.
- Schwarz, F., 1887: Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. *Cohns Beiträge zur Biologie der Pflanzen* 5, H. 1.
- Sisakjan, N. M. (häufig auch Sissakjan), 1956: Chemische Eigenschaften und biochemische Funktionen der Plastiden (Tagungsbericht). *Z. angew. Chemie* 68, 195.
- und M. S. Cernjak, 1952: Über die Nucleinsäuren der Plastiden. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, N. S. 87, 469.
- und M. S. Odjinzowa, 1954: Über die Veränderungen der Plastiden-RNS im Entwicklungsgang eines Organismus. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR*, N. S. 97, 119.
- Spiekermann, R., 1957: Cytochemische Untersuchungen zum Nachweis von Nucleinsäuren in Proplastiden. *Protoplasma* 48, 305.
- Strugger, S., 1957a: Die Vitalfärbung der Chloroplasten von *Helodea* mit Rhodaminen. *Flora* 151, 113.
- 1957b: Weitere Untersuchungen über die Vitalfärbung der Plastiden mit Rhodaminen. *Flora* 151, 324.
- 1949: *Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze*. Springer-Verlag, Berlin.
- 1950: Über den Bau der Proplastiden und Chloroplasten. *Naturw.* 37, 166.
- 1951: Die Strukturordnung in Chloroplasten. *Ber. dtsh. Bot. Ges.* 64, 69.
- 1953a: Die historische Entwicklung und der gegenwärtige Stand der Zellentheorie des Lebens. *Ges. z. Förderung d. westf. Landesuniversität*, Heft 29, Verlag Aschendorff, Münster.
- 1953b: Über die Struktur der Proplastiden. *Ber. dtsh. bot. Ges.* 46, 439.
- 1954: Die Proplastiden in den jungen Blättern von *Agapanthus umbellatus* L'Herit. *Protoplasma* 43, 120.
- und E. S. Perner, 1956: Beobachtungen zur Frage der ontogenetischen Entwicklung des somatischen Chloroplasten. *Protoplasma* 46, 711.
- Waygood, E. R., und K. A. Clendenning, 1950: Intracellular localization and distribution of carbonic anhydrase in plants. *Science* 113, 177.



- Weier, T. E., 1953: The cytology of leaf homogenates. *Protoplasma* 42, 260.
- und C. R. Stocking, 1952 a: The chloroplast: structure, inheritance, and enzymology. *Bot. Rev.* 18, 14.
- — 1952 b: A cytological analysis of leaf homogenates. I. Nuclear contamination and disorganized chloroplasts. *Amer. J. Bot.* 39, 720.
- Wilbur, K. M., und N. G. Anderson, 1951: Studies on isolated cell components. I. Nuclear isolation by differential centrifugation. *Exper. Cell. Res.* 2, 47.
- Wyatt, G. R., 1950: Occurance of 5-methyl-cytosin in nucleic acids. *Nature* 166, 237.
- 1951: The purine and pyrimidine composition of deoxypentose nucleic acids. *Biochem. J.* 48, 584.

# Plasmolysestudien an Laubmoosen

## I. Erscheinungen des Plasmolyseverzuges

Von

**Erna Steinlesberger**

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien

Mit 14 Textabbildungen

(Eingegangen am 2. Juni 1958)

### Inhalt

	Seite
1. Einleitung . . . . .	544
2. Material und Methodik . . . . .	547
3. Das Plasmolyseverhalten in der Gattung <i>Plagiothecium</i> . . . . .	548
4. Das Plasmolyseverhalten weiterer Laubmoose . . . . .	561
5. Besprechung der Versuchsergebnisse . . . . .	580
Zusammenfassung . . . . .	584
Literatur . . . . .	586

### 1. Einleitung

Bei Limpricht (1904) findet sich als Unterscheidungsmerkmal einzelner Laubmoosgattungen eine merkwürdige Angabe. So wird die Gattung *Brachythecium* — „mit Primordialschlauch“ von der Gattung *Eurhynchium* — „ohne Primordialschlauch“ unterschieden. Für die Hypnaceen gilt ebenfalls als charakteristisches Merkmal — „meist ohne Primordialschlauch“. Häufiger als Gattungen werden auf diese Weise einzelne Arten unterschieden.

Es sollten also einzelne Gattungen und Arten der pleurokarpen Moose einen Primordialschlauch besitzen, andere nicht. Diese Angabe, die uns heute naiv anmutet und nichts weniger aussagen will, als daß es Zellen mit und ohne Plasma gibt, muß wohl darauf zurückgehen, daß schon die alten Physiologen Unterschiede im Plasmolyseverhalten dieser Moose festgestellt haben.

Daß die Pflanzenzellen nicht alle gleich gut plasmolisierbar sind, konnte bereits Nägeli (1855) beobachten. Er findet schon neben normal plasmolisierenden Zellen solche, die in Rohrzuckerlösung überhaupt nicht plasmolisierbar sind oder nur eine Einstülpung der Membran zeigen. Als Er-

klärung führt er für den ersten Fall eine sehr dichte Zellflüssigkeit, für den zweiten Fall eine sehr starke Adhäsion des Primordialschlauches an die Membran an.

Straßburger (1901), der Plasmolyseversuche am Laubmoos *Mnium affine* durchführt, betrachtet als Ursache für den etwas verzögerten Plasmolyseverlauf ebenfalls die Adhäsion als den dafür maßgeblichen Faktor, und hält diese für eine Folge der zahlreichen, von ihm zwischen den einzelnen Zellen beobachteten Plasmaverbindungen. Nach Kohl 1897 finden sich solche Plasmodesmen bei den meisten Laub- und Lebermoosen. Ausschlaggebend für diese Annahme Straßburgers ist seine Beobachtung, daß die zweite Plasmolyse gegenüber der ersten auffällig beschleunigt ist.

Die Ursache für die Unplasmolisierbarkeit der Zellen sehr junger Blättchen sieht Straßburger in einem mangelnden Zellsafttraum, ein Faktor, der, wie Untersuchungen an Cyanophyceen (Brand 1903, Schmid 1923, Pernauer 1958) zeigen, auch an ausgewachsenen Zellen Ursache von Unplasmolisierbarkeit sein kann.

Brilliant (1927) deckt einen weiteren Gesichtspunkt als Ursache für die Schwerplasmolisierbarkeit der Laubmoose auf, den Zellwandwiderstand. Er kann an den Zellen der Laubmoose *Mnium* und *Catharinea* bei Einlegen von Blättern derselben in hypertone Zuckerlösungen beobachten, daß die Abhebung der Protoplasten stets nur an den der Blattbasis zugewendeten Zellwänden erfolgt. Er schließt daraus, daß das Plasmolytikum nur von der Blattbasis her einzudringen vermag. Außerdem stellt er fest, daß bei Einlegen der Blättchen in stark hypertone Rohrzuckerlösungen an Stelle einer Plasmolyse eine Eindellung der Außenwände erfolgt, ähnlich wie eine solche auch bei Wasserentzug durch erhöhte Lufttrockenheit eintritt.

Diese Erscheinungen, die Brilliant auf eine Impermeabilität beziehungsweise Schwerdurchlässigkeit der Zellwände für das großmolekulare Plasmolytikum zurückführt, wurden in der Folge allenthalben außer an verschiedenen Moosarten auch an anderen pflanzlichen Objekten beobachtet: u. a. von Frenzl (1929) an Haaren von Blütenpflanzen, von Jost (1929) an *Chara*, von Förster (1932) an der Alge *Rhizoclonium*, von Renner (1953) und Härtel (1940) an Hymenophyllaceen. Vor allem aber erwiesen sich die Laubmoose geradezu als klassisches Beispiel für schwerdurchlässige Zellen, wie dies, nach Brilliant (1927) und Brauner (1929), aus Untersuchungen von Huber und Höfler (1930, Kressin (1935) Mender (1938) hervorgeht und in jüngster Zeit von Biebl (1954) in seinen Versuchen mit *Mnium*-Arten sehr klar veranschaulicht wurde.

Huber und Höfler (1930) haben bei ihren Studien über die Wasserpermeabilität für eine Anzahl von Objekten aus den verschiedenen Pflanzengruppen Art und Tempo des Plasmolyseeintrittes untersucht. Sie konnten feststellen, daß für die Mehrzahl der von ihnen untersuchten Objekte, mit Ausnahme der Laubmoose, der Widerstand des Plasmas gegen den Wasserdurchtritt, die Wasserpermeabilität des Protoplasten entscheidender war als der Permeationswiderstand der Zellwand, bei den Laubmoosen dagegen der Diffusionswiderstand der Membran das Entscheidende war. In Traubenzucker trat die Plasmolyse weitaus langsamer ein als in KCl.

Viel weniger Einfluß üben die Adhäsion und die Viskosität, der Widerstand des Plasmas gegen Formveränderungen aus.

Buhmann (1935) hat an verschiedenen pflanzlichen Objekten, unter anderem auch an *Hookeria lucens*, kritische Messungen des osmotischen Wertes durchgeführt. Sie findet, daß der plasmolytische Grenzwert bei der ersten Plasmolyse höher liegt als bei Deplasmolyse, beziehungsweise der osmotische Meßwert bei der zweiten Plasmolyse tiefer liegt als bei der ersten Plasmolyse, und greift bei der Deutung ihrer Beobachtungen auf Straßburger zurück. Sie betrachtet allgemein als Ursache dieses verzögerten Plasmolyseeintrittes einen überaus starken „Haftdruck“ des Plasmas an die Wand.

Daß auch die Chromatophoren infolge ihrer Steifheit, beziehungsweise starken Raumerfüllung den Plasmolyseverlauf hemmen können, zeigen Untersuchungen von Weber (1929), Eibl (1939), Krebs (1951) und Abel (1956).

Neben diesen in der Literatur als Ursache für Un- beziehungsweise Schwerplasmolysierbarkeit ausgesprochenen Befunden liegen noch eine große Zahl weiterer Annahmen für „vitale Unplasmolysierbarkeit“ (Weber 1929) vor. Fluri (1909) beobachtet eine reversible Unplasmolysierbarkeit durch den Einfluß des Al-Ions, was er auf einen Verlust der Semipermeabilität zurückführt. Scüzs (1913) sieht die Ursache in einer Erstarrung des gesamten Protoplasten, Weber (1924) in einer Verfestigung der zum Teil in der Zellwand verankerten protoplasmatischen Grenzschichten und in dem dadurch bedingten verstärktem Haften des Protoplasten an der Zellmembran.

Diese Ausführungen mögen genügen, um die Mannigfaltigkeit der über vitale Unplasmolysierbarkeit vorliegenden Befunde aufzuzeigen, wobei hier vor allem die „relative Unplasmolysierbarkeit“ (Weber 1929) verstanden sei, wenn Plasmolyse nicht unter allen Umständen unterbleibt, sondern unter entsprechenden Bedingungen doch noch eintritt. Es sei nur noch auf einen in jüngster Zeit von Hofmeister (1956) gefundenen Fall von absoluter Unplasmolysierbarkeit hingewiesen, dessen Ursache, wie an den Pollenkörnern verschiedener Pflanzen gezeigt wird, auf dem Fehlen einer differenzierten Grenzschicht des Plasmas beruht. —

Fragen wir nun, was bei den Laubmoosen primäre Ursache der Nichtbeziehungsweise Schwerplasmolysierbarkeit ist, so kommen wir zusammenfassend auf etwa fünf Faktoren, die die Grundfrage zellwand- oder plasmabedingte Schwerplasmolysierbarkeit einschließen. Es sind dies:

1. Der Diffusionswiderstand der Zellwand für die plasmolytischen Reagenzien — Zellwandwiderstand.
2. Das Haftvermögen des Plasmas an die Zellwand — Adhäsion.
3. Der Permeationswiderstand des Plasmas gegen den Wasserdurchtritt — Wasserpermeabilität.
4. Der Widerstand des Plasmas gegen Formveränderungen.
5. Ein mangelnder Zellsaftraum, beziehungsweise die Raumerfüllung durch Plasma und Plastiden.

Den Anteil dieser Faktoren kennenzulernen, ist eine Hauptaufgabe der

folgenden Untersuchung, die auf zahlreiche Laubmoosarten auszudehnen war. Weiter ergab sich als Arbeitsziel, das aus der Gesamtwirkung der aufgezählten Faktoren resultierende Plasmolyseverhalten an verschiedenen Arten vergleichend zu kennzeichnen. Ich hatte daher aus auszuwählenden Gattungen vornehmlich solche Arten zu prüfen, die durch ihre Standortsansprüche schon als Hygro-, Meso- und Xerophyten gekennzeichnet sind und dementsprechend korrespondierend morphologische Unterschiede der Zellwanddicke und des Blattzellnetzes aufweisen. Aus der allgemeinen bryologischen Literatur (Herzog 1929, Lorch 1923) ist ja bekannt, wie sehr bei den Moosen das Verhältnis von morphologischer Ausbildung und ökologischem Anspruch festgelegt ist.

## 2. Material und Methode

Ein Teil des untersuchten Moosmaterials stammt aus dem nordwestlichen Wienerwald (Rekawinkel, Riederberg, Aggsbachklause, ...) einem Gebiet, das hinsichtlich seiner Moosökologie und -soziologie jüngst von Haybach (1956) untersucht worden ist.

Einen Teil sammelte ich in der näheren Umgebung des Sonntagberges (westliches Niederösterreich, Alpenvorland), einen nach den Bodenverhältnissen, gleichfalls Flyschuntergrund, dem Wienerwald recht ähnlichen Gebiet. In dieser Gegend liegt auch ein bisher noch unbekannt gewesener Fundort der *Hookeria lucens*, eines unserer prächtigsten Laubmoose, das bis zur Zeit in Niederösterreich einzig aus dem Wienerwald bekannt war. Es wuchs dort in einem geschützten Waldgraben, wo es von Fürst entdeckt und, nachdem der Bestand im Trockenjahr 1947 fast ganz zugrunde gegangen war, von Höfler 1955 in einzelnen Resten wiedergefunden worden war.

Manches gute Versuchsmaterial hatte ich auf Exkursionen des Instituts, im Gebiet von Hüttschlag, Großarlal (östliche Niedere Tauern, kristallin. Gestein) um die Preintalerhütte, Sonntagskarsee, Rissachsee (Radstätter Tauern) und in der Umgebung des Pordoi-Passes (Südtiroler Dolomiten) gesammelt.

Für einige Sumpf- und Wassermoose danke ich Herrn Assistent Doktor Walter Url, der mir dieselben freundlicherweise von seinen Algenexkursionen aus Moosbrunn (nordöstliche Wienerbecken), dem Torfmoor von Tamsweg und aus dem Waldviertel (Karlstift) mitbrachte. Für einige Moose aus Pichl bei Mondsee schulde ich Herrn Dr. Wolfgang Abel Dank, der zur selben Zeit über die Austrocknungsresistenz der Laubmoose arbeitete.

Weitere Moose sammelte ich in den Hundsheimer Bergen und im Leithagebirge.

Die Versuche wurden größtenteils an standortfrischem Material, zum Teil an kultiviertem durchgeführt. Die Kultur erfolgte in Glasdosen vor ostgelegenen Fenstern des Instituts, wobei sie vormittags durch vorgestellte Papierbogen vor starker Sonnenbestrahlung geschützt wurden.

Zur Untersuchung wurden volumnormale Lösungen von Traubenzucker, Glycerin, Harnstoff, in einigen Fällen Erythrit, in Abstufungen von 0,1 mol verwendet. Die Versuche in diesen Plasmolyticis, die sich durch verschiedene

Molekulargröße unterscheiden, sollten nach Huber und Höfler (1930) zunächst Aufschluß geben, ob die vorliegende schwere Plasmolysierbarkeit auf eine Impermeabilität der Membran für das Plasmolytikum zurückgeht oder ob auch die Wasserpermeabilität begrenzend wirkt. Aus der Beobachtung von Plasmolyseform und -ort wurde dann, im Sinne Webers (1929), getrachtet, Aufschluß über die Viskosität des Plasmas, beziehungsweise der äußeren Plasmagrenzschichten und des Festhaltens von Plasma und Membran zu erhalten. Die Beobachtungen wurden dabei vorwiegend in Traubenzucker und Glycerin vorgenommen, der bei Plasmolyse in rascher permeierenden Lösungen, wie zum Beispiel Harnstoff, infolge der Rückdehnung immer eine vorzeitige Rundung stattfindet.

Stufenversuche (Höfler 1918, Höfler und Url 1957) sollten helfen, den Anteil des „nicht lösenden Raumes“, das heißt vom Plasma und Einschlüssen, gegenüber dem Zellsaft abzuschätzen.

Zu den Versuchen wurden die Moosstämmchen in Abschnitte zerschnitten und die Teilstämmchen in mehreren Konzentrationsstufen untersucht. Stets wurden einige der Blättchen an den Teilstämmchen angeschnitten. Wird derart der Diffusionswiderstand ausgeschaltet, so wird es möglich, die Laubmoosblättchen zur Plasmolyse zu bringen (Höfler 1930, Mender 1938, Biehl 1954, Reuter 1956).

### 3. Das Plasmolyseverhalten in der Gattung *Plagiothecium*

Die Gattung *Plagiothecium* wurde gewählt, weil die Blätter der meisten Arten für plasmolytische Versuche gut geeignet sind. Marklund (1936) hat an *Plagiothecium denticulatum* sogar die erste Permeabilitätsreihe festlegen können. Es ist hier eine Gegenüberstellung von leicht- und schwerplasmolysierbaren Arten in ein und derselben Gattung möglich. Nach Herzog (1926) ist die Gattung *Plagiothecium*, als die größte der Familie der *Plagiotheciaceae*, am stärksten in den nördlich kühl gemäßigten, eurasiatisch-nordamerikanischen Waldgebieten entfaltet; sie vereinigt nach Haybach (1956) ausgesprochen humusbewohnende Arten.

Wenden wir uns zunächst den *Plagiothecien* mit weitmaschigem Zellnetz zu.

*Plagiothecium neglectum* Moenkem. — Bildet ausgedehnte, bräunlich-grüne Decken auf feuchtem, schattigem Boden im Buchen-Fichtenwald und wurde am Sonntagberg und Rekawinkel gesammelt.

Ein Stämmchen dieses Mooses, in 1,0 mol Traubenzucker gebracht, zeigt in den Sproßbasisblättern und den mittleren Sproßblättern nach 5 Min. deutliche Abhebung des Protoplasten von den Längswänden, während derselbe an den Querwänden haften bleibt und auf diese Weise spindelförmige Gestalt annimmt. Allmählich kommt es dann zur Loslösung von den Querwänden und zwar stets zuerst im apikalen Teil der Blättchen. Nach 20 Min. weist der Großteil der Blättchen zweiseitig abgehobene Protoplasten auf (Abb. 1). In den Sproßspitzenblättern wird die spindelförmige Plasmolyse 3–4 Stunden beibehalten. Erst dann kommt es auch hier zur Abhebung von den Querwänden.



Diese spindelförmige Plasmolyseform, wie sie Kressin (1935) auch an *Fontinalis*-Blättern beobachtete, ist für alle Plagiothecien charakteristisch. Die Zeitdauer bis zur Abhebung des Plasmas von den Querwänden ist für die einzelnen Arten in den verschiedenen Plasmolyticis unterschiedlich. Sie sinkt mit abnehmendem Molekularvolumen der Lösungsteilchen, wie die Zeit bis zum Eintritt der spindelförmigen Plasmolyse.

Demnach tritt in 1,0 mol Glycerin schon nach 30 Min. in den Sproßbasis- und mittleren Sproßblättern spindelförmige Plasmolyse auf, die nach

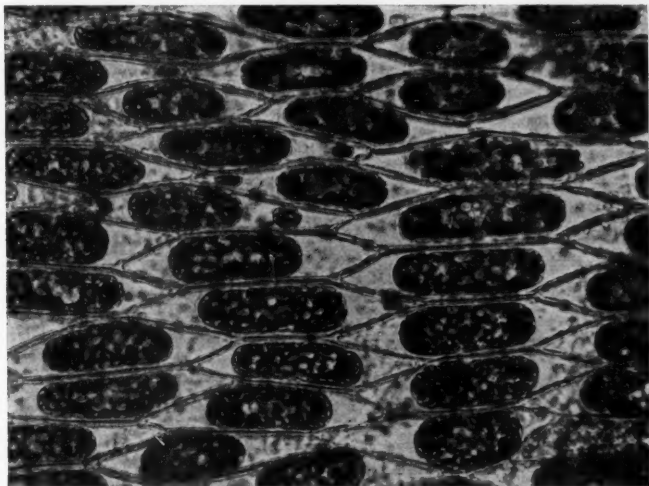


Abb. 1. *Plagiothecium neglectum*, 20 Min. in 1,0 mol Traubenzucker. Zweiseitig konvexe Plasmolysen in allen Zellen eines Blättchens.

2 Min., angefangen in den Blattspitzenzellen, flach konvexe Formen anzunehmen beginnt und nach 15 Min. 90% der Zellen erfaßt hat. Stets bleiben dabei die Protoplastenenden durch einen sich allmählich verdünnenden Plasmastrang mit der Querwand in Verbindung. In den Zellpolen sind negative Plasmolyseorte im Sinne Webers ausgebildet. In den Sproßspitzenblättern beginnt die Loslösung des Plasmas von den Querwänden erst nach 30 Min. Auch hier bleibt der Protoplast durch einen Plasmastrang mit der Querwand in Verbindung.

Bei diesem Moos wurde auch der Plasmolyseeintritt in 1,0 mol Erythrit beobachtet. Er liegt zeitlich zwischen dem von Traubenzucker und Glycerin. 3 Min. nach dem Einlegen in den Alkohol zeigen basale und mittlere Sproßblätter längsseitig abgehobene Protoplasten. Die Sproßspitzenblätter sind noch unplasmolysiert. Nach 8 Min. kommt es in den basalen Blättchen im apikalen Teil vereinzelt zur Abhebung des Plasmas von den Querwänden, während die mittleren Stammblätter noch an spindelförmigen Plasmolysen

festhalten und die Sproßspitzenblätter erst beginnende Abhebung zeigen. Nach 20 Min. sind in den Zellen der basalen Sproßblätter beinahe alle Protoplasten von den Querwänden abgehoben, während die mittleren Stammlätter in ihrem Spitzenteil beginnende Abhebung von den Querwänden zeigen. In den obersten Sproßblättchen ändert sich die längsseitige Abhebung erst nach  $1\frac{1}{2}$  Stunden in der Weise, daß sich der Protoplast an einer Stelle durchschnürt und die beiden Teilprotoplasten an den Querwänden haften bleiben.

1,0 mol Harnstoff ruft sofortige spindelförmige Plasmaabhebung hervor, die sehr rasch in eine zweiseitig konvexe Form übergeht, in den basalen Blättchen innerhalb von 3 Min. Bei den mittleren Stammlättchen braucht es 12 Min., bis die in den Blattspitzenzellen beginnende spindelförmige Plasmolyse im ganzen Blättchen in eine Endform mit kugelkonvexen Miniken übergeht. In den obersten Sproßblättchen wird in 1,0 mol Harnstoff stets nur spindelförmige Plasmolyse erreicht, die nach einiger Zeit wieder zurückgeht. Wahrscheinlich permeiert der Harnstoff früher durch das Plasma in die Vakuole, als sich dieses von den Querwänden löslöst.

Salze wie KCl bewirken in alten und mittleren Blättchen stets sofortige Abhebung von den Querwänden, bis auf die Sproßspitzenblätter, die zum Teil eine geringe Verzögerung zeigen. Nur in hochkonzentrierten Lösungen kommt es hier zur Ausbildung spindelförmiger Plasmolyseformen.

Die Tendenz des Plasmas zu konkaven Plasmolyseformen in stark hypertonischen Elektrolytlösungen wurde bereits 1901 von Straßburger für *Mnium*-Blättchen beschrieben und von Weber (1927) allgemein für pflanzliche Zellen zusammenfassend dargestellt. In diesen Fällen handelt es sich um Plasmolyseformen, die durch die stark wasserentziehende Wirkung des Plasmolytikums zustande kommen und die über die Eigenschaften des Plasmas selbst nur mehr sehr wenig aussagen. Die negativen Plasmolyseorie an den Zellpolen bei Plasmolyse mit Anelektrolyten sind wohl ähnlich zu erklären. Primär bewirkt durch ein von vornherein gegebenes stärkeres Haftvermögen, führt dasselbe, gesteigert durch den starken Wasserentzug bei übermäßiger Hypertonie des Lösungsmittels, dazu, daß mit ansteigender Konzentration des Plasmolytikums die Spindelform immer länger beibehalten wird und es nur mehr sehr schwer zu einer konvexen Plasmolyseform kommt. Bei nur geringer Hypertonie des Plasmolytikums hingegen unterbleibt in den älteren Stammlättchen die spindelförmige Plasmolyse und die Abhebung des Plasmas erfolgt zuerst von den Querwänden. Nicht so in den mittleren und jungen Moosblättchen. Es scheint also das Haftvermögen des Plasmas an den Querwänden mit dem Alter der Zellen abzunehmen; andererseits nimmt wohl der Diffusionswiderstand der Zellmembran ab, da in alten Blättchen stets früher Plasmolyse erfolgt als in den mittleren und jungen Blättchen.

Ähnliche Unterschiede in der Beschaffenheit des Plasmas und der Zellwand, wie sie zwischen den basalen, mittleren und obersten Blättchen einer Moospflanze zu beobachten sind, treten noch viel deutlicher zwischen den Zellen alter und junger Zuwachssprosse hervor.

## Hiezu ein Auszug aus dem Versuchsprotokoll:

1,0 mol Traubenzucker:

27. April 1955

Alter Sproß:

Junger Zuwachssproß:

4 Min.: Abhebung von den Längswänden, spindelförmige Plasmolyse.

Keine Plasmolyse.

10 Min.: Basale Sproßblätter: Blattspitzenzellen beginnende Abhebung von den Querwänden.

Parenchymatische Basiszellen der basalen Blättchen stark konkav plasmolysiert.

12 Min.: Laminazellen: Abhebung von den Querwänden.

25 Min.: Basale Blättchen mit sehr schön zweiseitig konvexen Protoplasten.

1 Std.: Mittlere Sproßblätter: Der Großteil der Zellen mit von den Querwänden abgehobenen Protoplasten.

Basalblättchen: Konkave Plasmolyse in den Blattspitzenzellen und einem Großteil der Laminazellen.

2 Std.: Oberste Sproßblätter: Spindelförmig plasmolysiert.

Oberste Sproßblättchen: konkav plasmolysiert.

5 Std.: Oberste Sproßblätter: Spindelförmig plasmolysiert.

2½ Std.: Blättchen des mittleren und oberen Stamnteiles zum Teil konvex plasmolysiert.

In 1,0 mol Glycerin ergab sich folgendes Verhalten:

Alter Sproß:

Junger Zuwachssproß:

1 Min.: Basisblättchen und mittlere Sproßblättchen: Abhebung des Protoplasten von den Längswänden. Blattspitzenzellen der Basisblättchen mit von den Querwänden abgehobenen Protoplasten.

Keine Plasmolyse.

5 Min.:

Abhebung von den Längswänden, spindelförmige Protoplasten mit zahlreichen Plasmafäden zur Membran.

12 Min.: Basisblättchen zweiseitig konvex plasmolysiert.

Dasselbe.

15 Min.:

Basale Blättchen: Blattspitzenzellen beginnende Abhebung von den Querwänden mit feinen Plasmafäden zur Membran.

25 Min.: Mittlere Stamblätter: Beginnende zweiseitige Plasmolyse mit Plasmasträngen zu den Querwänden.

Die Plasmolyse hat 50% der Zellen der Basisblättchen erfaßt.

1½ Std.: Vereinzelt noch spindelförmig plasmolysierte Zellen. — Oberste Stamblätter: Ganz schwache Abhebung von den Querwänden.

Mittlere Stamblätter: Durchwegs mit von den Querwänden abgehobenen Protoplasten.

2½ Std.:

Auch die obersten Sproßblättchen Abhebung von den Querwänden.

Gleicher Versuch in 1,0 mol Harnstoff hat folgenden Verlauf:

Alter Sproß:	Junger Zuwachssproß:
1 Min.: Abhebung von den Längswänden.	Abhebung von den Längswänden.
5 Min.: Basisblättchen zweiseitig konvex plasmolysiert.	Breite Basiszellen der Blättchen stark konkav plasmolysiert. Alle übrigen Zellen spindelförmig.
5 Min.: Mittlere Blättchen: Beginnende Abhebung in den Zellen der Blattspitze.	Dasselbe.
9 Min.: Die Plasmolyse setzt sich in den Zellen gegen die Blattbasis zu fort. Zunächst einseitige Plasmolysen, die aber bald in zweiseitige übergehen.	In den basalen Blättchen zum Teil beginnende Abhebung von den Querwänden mit starken Fadenziehen der Protoplasten (vgl. Abb. 2).
12 Min.: Auch die prosenchymatischen Laminazellen plasmolysiert.	Dasselbe.
15 Min.: Alle Zellen plasmolysiert.	Mittlere Blättchen: Vereinzelt Zellen mit von den Querwänden abgehobenen Protoplasten.
1 Std.: Sehr stark vorgeschrittene Deplasmolyse. Blattspitzenzellen vollständig deplasmolysiert.	1¼ Std.: Basale und mittlere Blättchen: Sehr schön zweiseitig konvex plasmolysiert.
1¼ Std.: Basiszellen nur mehr ganz wenig abgehoben.	2 Std.: In den obersten Sproßblättchen teilweise von den Querwänden abgehobene Protoplasten.

Ergebnis: An beiden Sproßen wird das Tempo des Plasmolyseeintritts durch den Zellwandwiderstand bestimmt, bei alten Sprossen auch der Plasmolyseverlauf. An den jungen Sprossen fällt auf, daß die Plasmolyse gleich schnell in den verglichenen Plasmolyticis Traubenzucker, Glycerin und Harnstoff fortschreitet. Der erste Eintritt ist aber eindeutig durch den Diffusionswiderstand der Membran bedingt.

*Plagiothecium silbaticum* Br. eur. — Wächst an besonders schattigen, feuchten Stellen am Fuße von Buchen beziehungsweise Fichten. Normales Material verhält sich ähnlich wie *P. neglectum*. Doch ließ sich bei dieser Art eine Änderung der Eigenschaften nicht nur mit dem Alter, sondern auch mit dem Wechsel der Außenbedingungen feststellen.

Frisches, gesundes Frühsommermaterial zeigt bei Einlegen in 1,0 mol Traubenzucker nach 5 Min. längsseitige Abhebung des Protoplasten, der nach 20 Min. beginnend in der Blattspitze der Basalblättchen eine Abhebung von den Querwänden folgt. In den mittleren und oberen Sproßblättern mit einer nach 8–10 Min. eintretenden spindelförmigen Plasmolyse kommt es erst nach einigen Stunden (2–2½) zur konvexen Endform. In den Sproßendblättchen wird nur Spindelform erzielt.

Recht verschieden davon verhielten sich Blättchen von Stämmchen eines durch 4 Monate im Institut relativ feucht gehaltenen Moosrasen. In 1,0 mol Traubenzucker eingelegt, plasmolysieren die Basisblättchen sofort zweiseitig konvex, die Blättchen des oberen Stammteiles zunächst spindelförmig.

Innerhalb von 30 Min. weisen jedoch, bis auf die vier obersten Stamtblättchen mit Spindelform, alle Blättchen zweiseitige Plasmolysen auf (Abb. 5).

Dem stehen die Resultate von Versuchen gegenüber, die an einem anfangs April 1956 auf trockenem, gefrorenem Boden gesammelten Moosrasen gewonnen wurden. Stämmchen davon, in 1,0 mol Traubenzucker gebracht, zeigen in ihren Blättchen selbst nach  $1\frac{1}{2}$  Stunden nur längsseitig abgehobene Protoplasten, dann erst folgt vereinzelt in den Zellen der Basisblättchen eine Loslösung des Protoplasten von den Querwänden. Diese Abhebung geht sehr langsam vor sich und erst am nächsten Tag sind 90% der Blättchen zweiseitig plasmolysiert.

In Glycerin und Harnstoff ergaben sich ebenfalls dem Material entsprechende Unterschiede. Das frische Frühsommermaterial zeigt in 1,0 mol Glycerin in den Basisblättchen nach 2 Min. längsseitige Abhebung des Protoplasten; die obersten Sproßblättchen erst nach 12 Min. Diese Spindelform wandelt sich in den Basisblättchen innerhalb von 30 Min. in eine zweiseitig flach konvexe Form, in den Blättchen der oberen Sproßhälfte innerhalb von  $1\frac{1}{2}$  Stunden. Stämmchen des kultivierten Materials sind innerhalb von 20 Min. von der Basis bis zur Spitze zweiseitig konvex plasmolysiert. Bei dem Frühjahrsmaterial hingegen geht die nach 12 Min. beginnende Längsabhebung nur in den basalen Blättchen nach  $1\frac{1}{4}$  Stunden in einzelnen Zellen in eine zweiseitige Endform über. In den übrigen Blättchen wird die Spindelform bis zur eintretenden Deplasmolyse beibehalten.

Harnstoff wurde zu den Versuchen in Konzentrationen von 1,2 mol verwendet, da in niederen Konzentrationen der Konzentrationsausgleich zwischen Zellsaft und Plasmolytikum infolge der Harnstoffpermeation des Protoplasten so rasch erfolgt, daß eine Plasmaabhebung unterbleibt. Insbesondere ist dies in den Blättchen der oberen Sproßhälfte der Fall. Biebl (1955) stellt ein ähnliches Verhalten in Formamid für die in Rohrzucker nur schwer, beziehungsweise kaum plasmolysierbaren Blättchen von *Mnium punctatum* und *Mnium serratum* fest. Dadurch werden die Plasmolyse-eintrittszeiten in Harnstoff mit denen von Traubenzucker und Glycerin zwar nicht direkt vergleichbar, der Versuch läßt aber deutlich den rascheren Plasmolyseverlauf in Harnstoff erkennen. 2 Min. nach dem Einlegen der Blätter in das Plasmolytikum weisen alle spindelförmige Plasmolyse auf, die nach 5 Min. in den Sproßbasisblättern in eine zweiseitige übergeht. Nach 12 Min. sind die Protoplasten der Zellen der mittleren Stamtblätter von



Abb. 2. *Plagiothecium neglectum*, Basisblättchen eines Zuwachssprosses, 9 Min. in 1,0 mol Harnstoff. Spindelförmige Plasmolyse mit zahlreichen Plasmafäden an die Membran.

den Querwänden abgehoben, vereinzelt auch die der Sproßspitzenblättchen. Die Zellen letzterer plasmolysieren vielfach in der Art, daß sich Teilprotoplasten bilden, die an den Querwänden haften bleiben und mit einem in der Zellmitte gelegenen Plasmastrang in Verbindung stehen.

Blättchen des feucht kultivierten Materials sind innerhalb von 10 Min. zweiseitig konvex plasmolysiert, sowohl die basalen wie die Sproßspitzenblätter. Nur die drei obersten Blättchen zeigen konkave Abhebung. Die Blätter des Frühjahrsmaterials beginnen in 1,2 mol Harnstoff alle nach 8 Min. spindelförmig zu plasmolysieren. Dieser längsseitigen Abhebung folgt nach 45 Min. in den basalen Blättchen eine Abhebung von den Quer-



Abb. 3. *Plagiothecium silvaticum*, 30 Min. in 1,0 mol Traubenzucker. Zweiseitig konvex abgehobene Protoplasten in allen Blattzellen.

wänden. In den Blättern des oberen Stammteiles wird die Spindelform bis auf die Basiszellen einzelner Blätter, mit Abhebung von den Querwänden, bis zur Deplasmolyse beibehalten. Die Deplasmolysezeit beträgt in 1,2 mol Harnstoff  $1\frac{1}{4}$  Stunden.

*Plagiothecium platyphyllum* Moenkem. — Das von einem überrieselten Felsen in der Gegend der Preintalerhütte, zum Teil am Mondsee gesammelte Moos reagierte gleich gut wie die beiden vorhergehenden Arten. Die Unterschiede in den Zellwand- und Plasmaeigenschaften sind gering.

Blättchen eines Stämmchens, in 1,0 mol Traubenzucker gebracht, zeigen stets Plasmolysebeginn in den Basiszellen (nach ca. 2 Min.) beziehungsweise in den Nachbarzellen vor dem Versuch schon toter Zellen. Die Plasmolyseform der Sproßbasisblätter ist dabei flach konvex, teilweise einseitig mit positivem Plasmolyseort der Blattbasis zu. Die mittleren und obersten Sproßblättchen plasmolysieren mit konkaven Einbuchtungen von den Längswänden her, wobei es vielfach zur Durchschnürung der Protoplasten kommt und zur Bildung von Teilprotoplasten, die durch Plasmafäden miteinander in Verbindung stehen (Abb. 4). Nach 17 Min. erfolgt Plasmolyse-eintritt in der Blattspitze und in den übrigen Laminazellen. Hauptzutritts-



pforte für das Plasmolytikum sind also die Blattbasis und verletzte Stellen im Blättchen, wie der Plasmolysebeginn zeigt, Orte, an denen die Außenwand sozusagen nicht intakt ist.

Die Tatsache, daß das Plasmolytikum zuerst an den Orten höherer Membrandurchlässigkeit an den Protoplasten herantritt, ist altbekannt und bisher an zahlreichen pflanzlichen Objekten beobachtet worden (u. a. von Brillant, Kressin, Weber, Höfler, Möder, Härtel). Diese dichtere Beschaffenheit der Außenwände zeigt sich besonders deutlich bei

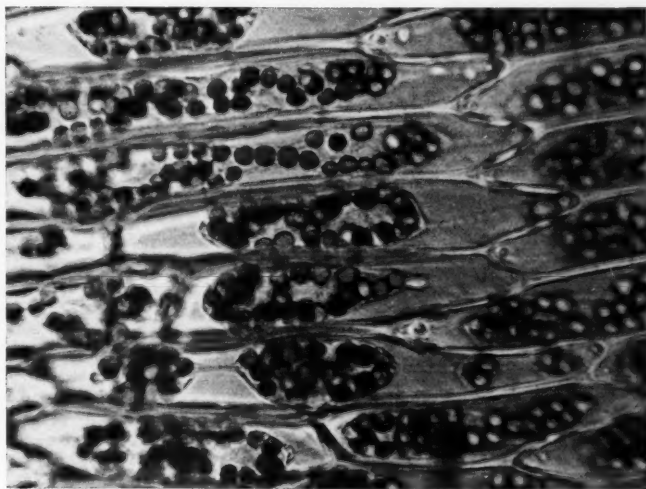


Abb. 4. *Plagiothecium platyphyllum*, 1 Stunde in 1,0 mol Traubenzucker. Konkav abgehobene Protoplasten mit Plasmabrücken an die Zellenden.

Anschneiden der Blätter. Eine Methode, die schon Höfler 1950, später Mender 1938 und Biebl 1954 bei ihren Versuchen anwandten. Es läßt sich dann gleichmäßige Plasmolyse in allen Teilen der Blättchen feststellen.

Für das kleinemolekulare Glycerin bietet die Außenwand der Zellen keinen größeren Widerstand als die Seitenwände, so daß 3 Min. nach dem Einlegen von Blättern in 1,0 mol Glycerin gleichmäßig im ganzen Blatt Plasmolyse eintritt, deren Form in den Basis- und Laminazellen zunächst konkav ist, in den Blattspitzenzellen flach konvex. Nach  $1\frac{1}{2}$ –2 Stunden findet man durchweg flach konvex abgerundete Protoplasten.

In 1,0 mol Harnstoff erfolgt der Plasmolyseeintritt nicht schneller als in Glycerin und ebenfalls gleichmäßig im ganzen Blatt. Zunächst konkav von Längs- und Querwänden, erst später erfolgt Abrundung, wobei die Protoplastenenden durch Fäden mit den Querwänden in Verbindung bleiben.

*Plagiothecium denticulatum* Br. eur. — Wurde auf rohem Waldhumus im Leithagebirge und in feuchten Kuhtritten bei der Preintalerhütte ge-

sammelt. Es ist dies die Art, die schon Marklund (1936) bei seinen Permeabilitätsversuchen verwendet hat. Sie erwies sich auch hier unter den Plagiotheciaceen mit lockerem Zellnetz als am besten plasmolysierbar. Ich will bei der Darstellung meines Permeabilitätsversuche auf diese Art noch ausführlich zurückkommen.

Von einem Stämmchen, das 58 Blättchen umfaßt, sind bei Einlegen in 1,0 mol Traubenzucker nach knapp 2 Min. 44 der Blättchen sehr schön zweiseitig konvex plasmolysiert, nur die obersten 14 Sproßblättchen zeigen in ihren Zellen spindelförmig abgehobene Protoplasten. Nach 3 Min. kommt es auch in diesen Blättchen zur Abhebung des Plasmas von den Querwänden, so daß nach 5 Min. alle 58 Blättchen zweiseitig konvex plasmolysiert sind.

In 1,0 mol Glycerin ist das bereits nach 3 Min. der Fall und in 1,0 mol Harnstoff erfolgt in allen Blättchen rasche Abhebung des Protoplasten von den Querwänden.

Als Vertreter der Arten mit engem Zellnetz wurden untersucht:

*Plagiothecium undulatum* Br. eur. — Eines der prachtvollsten Moose. Bei uns zu Lande als schöner Vertreter westlicher ozeanischer Laubmoose in den Fichtenwäldern der Gebirge.

In 1,0 mol Traubenzucker eingebrachte Blättchen zeigen nach 4 Min. konkaven Plasmolyseeintritt in den breiten Basiszellen. Nach 6 Min. folgen die prosenchymatischen Rand- und Spitzenzellen mit einer Abhebung des Protoplasten von den Längswänden, innerhalb von 20 Min. auch die übrigen Laminazellen. Erst nach 25 Min. erfolgt in den schmalen prosenchymatischen Zellen (Abb. 5) eine schwache Abhebung von den Querwänden. Die Blattbasiszellen sind konkav plasmolysiert.

In 1,0 mol Glycerin konkav-konvexe Abhebung in den Basiszellen und Plasmolysebeginn in den breiteren Spitzenzellen schon nach 2 Min. Innerhalb von 15 Min. sind die Laminazellen längsseitig abgehoben und nach 20 Min. auch von den Querwänden. Nach 1 Stunde zeigen fast alle Zellen konvexe Endplasmolyse. In den Blattbasiszellen finden sich vielfach Teilprotoplasten, ebenso in den langen prosenchymatischen Laminazellen.

In 1,0 mol Harnstoff beginnt die Plasmaabhebung nach 2 Min. in den Blattbasiszellen, die Form ist konkav mit Plasmasträngen nach den Querwänden. Nach 6 Min. ist in einem Großteil der Laminazellen Abhebung des Plasmas von den Querwänden erfolgt. Nach 10 Min. weisen die Sproßspitzenblätter konvexen Plasmolysebeginn in den Basiszellen auf (Teilprotoplastenbildung). Nach 30 Min. sind alle Blätter konvex plasmolysiert.

In den Astblättern ist die Folge umgekehrt. Dieselben zeigen nach 1 Min. beginnende Plasmolyse in den Zellen des obersten Blattdrittels, nach 3 Min. auch im mittleren Blatteil. Das unterste Blattdrittel mit den breiten Basiszellen zeigt erst nach 5 Min. beginnende konkave Abhebung.

*Plagiothecium Roeseanum* Br. eur. — Bildet ausgedehnte, leichtzerfallende Decken auf lockerem, trockenem Substrat an Waldwegböschungen und -hängen am Sonntagberg und dem westl. Wienerwald.

Frisches Frühsommermaterial, in 1,0 mol Traubenzucker eingebracht, zeigt

nach 20 Min. in den Basiszellen der basalen Blättchen konkave Abhebung der Protoplasten. Nach 25 Min. folgen die Blattspitzen- und die Laminazellen mit einer Loslösung von den Querwänden. In gleicher Weise werden nun die Blätter weiter sproßaufwärts von der Plasmolyse erfaßt, so daß nach 2½ Stunden alle Blättchen des Stämmchens plasmolysiert sind.

In 1,0 mol Glycerin beginnt die Plasmaabhebung bedeutend rascher. 10 Min. nach dem Einlegen zeigen die unteren Zellen der Basisblätter zum Teil auch die mittleren Sproßblätter Abhebung des Plasmas von den Quer-

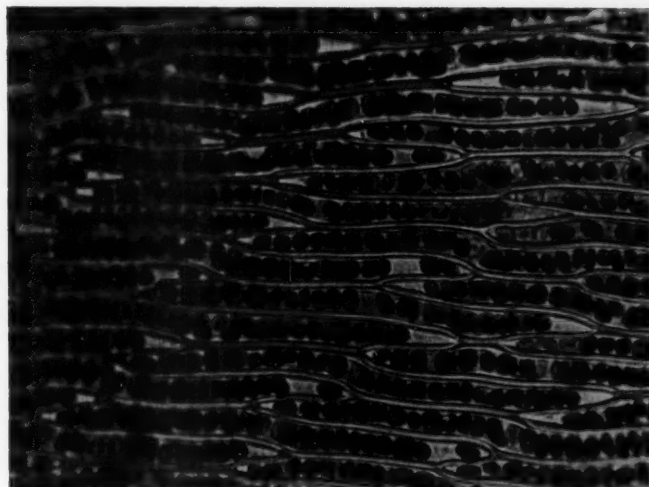


Abb. 5. *Plagiothecium undulatum*, 30 Min. in 1,0 mol Traubenzucker. Abhebung der Protoplasten in den schmalen, prosenchymatischen Laminazellen.

wänden, nach 25 Min. auch Spitzen- und Laminazellen und vereinzelt Basiszellen der Sproßspitzenblätter. Nach 1½ Stunden weisen alle Blätter 90%ige Plasmolyse auf.

In 1,0 mol Harnstoff sind bereits nach 2 Min. die Basisblätter zweiseitig plasmolysiert und nach 3 Min. erfolgt im basalen Teil der Sproßspitzenblätter Abhebung des Plasmas von den Querwänden. Innerhalb von 5 Min. sind alle Blättchen plasmolysiert.

Versuche am Herbstmaterial ergaben keine wesentlichen Unterschiede. Völlig andere Ergebnisse lieferten die Versuche an trockenem Sommermaterial. In 1,0 mol Traubenzucker beginnen nach 30 Min. die parenchymatischen Basiszellen der Basalblätter zu plasmolysieren. Nach 1½ Stunden hat die Plasmolyse einzelne Zellen der Lamina erfaßt. Nach ca. 3 Stunden ist dieselbe vollständig plasmolysiert, die obere Sproßhälfte ist noch unplasmolysiert.

In 1,0 mol Glycerin kommt es ebenfalls nur zur Abhebung des Plasmas

in den parenchymatischen Basiszellen basaler Blättchen, in allen übrigen Blättchen unterbleibt eine solche.

In Harnstoff erfolgt erst in 2,0 mol, 12 Min. nach dem Einlegen, Abhebung von den Querwänden. In 1,5 mol kommt es nur im basalen Teil der Blättchen zu einer schwachen Abhebung von den Längswänden, die nach 15 Min. bereits wieder verschwunden ist. In 1,0 mol Harnstoff tritt überhaupt keine Plasmolyse ein.

*Plagiothecium succulentum* Lindb. — Bildet zusammen mit *Polianutans*, nach Haybach (1956), eine charakteristische Gesellschaft der Baumnischen (Buchen) des westlichen Wienerwaldes. Es erwies sich als die am schwersten plasmolysierbare *Plagiothecium*-Art.

An in 1,0 mol Traubenzucker eingelegten Stämmchen läßt sich erst nach 2–2½ Stunden in den breiteren Basiszellen älterer Blättchen Plasmolyse feststellen. Größtenteils Bildung von an den Querwänden haftenden Teilprotoplasten, die durch Plasmafäden verbunden sind. Nur die etwas breiteren Blattspitzenzellen zeigen vereinzelt auch von den Querwänden abgelöste Protoplasten. Die schmalen Zellen des mittleren Blattabschnittes zeigen nach ca. 3 Stunden fast nur spindelförmige Plasmolysen, ebenso die Blättchen des obersten Sproßabschnittes.

In 1,0 mol Glycerin erfolgt Plasmolyseeintritt in den Zellen älterer Blättchen nicht viel früher als in Traubenzucker (nach ca. 2 Stunden). In den schmalen Laminazellen herrscht spindelförmige Plasmolyse vor. Ebenfalls spindelförmige Protoplasten zeigen vereinzelte Zellen der jüngeren Sproßblätter, die sich in dieser Konzentration größtenteils als unplasmolysierbar erwiesen.

Ein ganz anderes Verhalten zeigt sich in Harnstoff, wo die Blätter älterer bräunlicher Sprosse 3 Min. nach dem Einlegen konvex abgerundete Teilprotoplasten aufweisen. Jüngere, stark grüne Blätter zeigen nach 6 Min. nur ganz schwach von den Längswänden abgehobene Protoplasten, die noch, bevor Abrundung eintritt, zurückgeht.

Fassen wir die an den einzelnen Species gewonnenen Versuchsergebnisse zusammen: Innerhalb der Gattung *Plagiothecium* sind Arten von bester Plasmolysierbarkeit, Beispiel *P. denticulatum*, bis zu Schwer- beziehungsweise Unplasmolysierbarkeit, *P. succulentum*, festzustellen. Primäre Ursache für letztere ist eine geringe Durchlässigkeit beziehungsweise Impermeabilität der Membran der Moosblättchen, die bei einer Art nur den Durchtritt des großmolekularen Traubenzuckers hemmen kann, Beispiel *P. platyphyllum*, an einer anderen Art aber so dicht beschaffen erscheint, daß selbst der Durchtritt des kleinmolekularen Harnstoffes verzögert wird, *P. succulentum*.

Beim Vergleich der Arten sind gleichalte Moosblättchen zu verwenden. Auch da erweist sich die Beschaffenheit der Zellwände als für die Art spezifisch. *P. denticulatum* zeigt Zellwände von fast gleich guter Durchlässigkeit für die verschieden großmolekularen Plasmolytica. Bei *P. neglectum*, *P. silvaticum* und fast allen übrigen *Plagiothecium*-Arten erfolgt hingegen die Geschwindigkeit des Stoffdurchtrittes genau entsprechend der Größe

des Molekularvolumens der Lösungsteilchen. Eine Ausnahme bildet *P. platyphyllum*, bei dem nur die Außenwände für Traubenzucker schwerer permeabel sind, während die Seitenwände für denselben ebenso leicht durchlässig sind wie für Glycerin und Harnstoff. Ähnliches hat zuerst Biebl (1954) bei *Mnium*-Arten beobachtet; wir kommen darauf zurück.

An *P. undulatum*, *P. Roeseanum* und *P. succulentum* konnten Unterschiede in der Zellwandbeschaffenheit auch innerhalb ein und desselben Blättchens beobachtet werden. Und zwar zeigen die parenchymatischen Basiszellen der Blättchen eine bessere Durchlässigkeit ihrer Membranen für großmolekulare Stoffe als die Blattspitzen und insbesondere die Laminazellen. Solche Unterschiede in der Membrandichte hat zuerst Mender (1938) beobachtet.

Den Blättchen aller Arten gemeinsam ist, daß die Dichte der Zellwand mit dem Alter der Blättchen abnimmt. Die Membranen älterer Blättchen zeigen also bessere Durchlässigkeitseigenschaften für die Diosmotika als die der mittleren und deren Zellwände sind leichter permeabel als die der jungen Sproßblätter. Analoge Befunde aus der protoplasmatischen Pflanzenanatomie finden sich gesammelt bei Reuter (1956).

Einige Beobachtungen weisen aber darauf hin, daß für den Plasmolyseverlauf doch auch der Diffusionswiderstand des Plasmas für Wasser begrenzend wirken kann. So fällt in den jungen Zuwachssprossen von *P. neglectum* das gleich schnelle Fortschreiten der Plasmolyse in den verglichenen Plasmolytici Traubenzucker, Glycerin und Harnstoff auf, während in den alten Sprossen der Plasmolyseverlauf in Harnstoff viel rascher erfolgt als in Traubenzucker. Der Plasmolyseeintritt wird aber auch in den Zuwachssprossen eindeutig durch den Zellwandwiderstand bestimmt. Ein ähnliches Plasmolyseverhalten zeigen die Blättchen normaler Sprosse von *P. platyphyllum*.

Charakteristisch für fast alle Plagiatheciaceen (ausgenommen *P. platyphyllum*, mittlere und obere Stammbblätter von *P. denticulatum*) ist eine spindelartige Plasmolyseform zu Beginn der Plasmolyse, die auf ein stärkeres Haften des Protoplasten an den Zellenden hinweist. Dasselbe nimmt mit dem Alter der Zellen ab.

Kressin, der wie erwähnt schon 1935 an *Fontinalis*-Blättchen spindelförmige Plasmolysen beobachtete, führt dieselben auf die Wirkung eines stärker hypertonen Plasmolytikums zurück, das ja, wie Weber (1924) bereits feststellte, die Erzielung einer konvexen Plasmolyseform, infolge des stärkeren Wasserentzuges, verzögert. Auch in unserem Fall ist ein Einfluß der Konzentration des Plasmolytikums auf die Rundungszeit gegeben, das heißt die Spindelform wird um so länger beibehalten je konzentrierter das Plasmolytikum ist. Es handelt sich dabei aber wohl nur um eine sekundäre Wirkung, während das verstärkte Haftvermögen des Plasmas in den Zellenden und die entsprechenden negativen Plasmolyseorte primär gegeben sind. Darauf beruht auch die Neigung der Protoplasten, bei stärkerer Plasmolyse in Teilstücke zu zerfallen, deren äußerste an den Zellenden festhaften.

Die Rundungszeiten des Protoplasten liegen für die älteren Blättchen

stets niedriger als für die jungen Blättchen. Im Frühjahrsmaterial von *P. silvaticum* und Sommermaterial von *P. Roeseanum* erfolgt gar keine Abrundung und in den permeierenden Diosmotocis wie Harnstoff und Glycerin erhält sich dann die Spindelform bis zum Plasmolyserückgang.

Neben diesem am Moospflänzchen in Erscheinung tretenden plasmatischem Gefälle, das, außer an Moosen (Kressin 1935, Will-Richter 1949) in gleicher Weise an Blütenpflanzen (Möder 1932, Strügger 1934 u. a.) zu beobachten ist, sind für einige *Plagiothecium*-Arten auch innerhalb ein und desselben Moosblättchens plasmatische Differenzierungen festzustellen und zwar vor allem an älteren Blättchen.

Basale Sproßblättchen von *P. neglectum*, *P. silvaticum*, *P. platyphyllum* zeigen in den Blattspitzenzellen stets früher Abrundung des Protoplasten als in den Blattbasiszellen. Geringere Unterschiede zeigen Blättchen von *P. undulatum* und *P. Roeseanum*; bei diesen Arten werden die feineren plasmatischen Differenzierungen größtenteils durch die Membraneigenschaften überdeckt.

Änderung der Außenfaktoren bewirkt oft ein verändertes Verhalten, wie die Versuche an *P. silvaticum* und *P. Roeseanum* zeigen. So läßt das auf frosttrockenem Boden gesammelte Frühjahrsmaterial von *P. silvaticum* gegenüber feuchtem Herbstmaterial eine deutliche Erhöhung der Plasmaviskosität und auch der Zellwanddicke feststellen. Gleiche Wirkung zeigt die Lufttrocknis an sommerlichem Material von *P. Roeseanum*. Als Beleg sei kurz ein Beispiel angeführt.

Blättchen vom basalen Sproßteil des normalen Materials sind in Traubenzucker innerhalb von 20–30 Min. plasmolysiert, von sommertrockenem Material erst nach 5 Stunden. Die oberen Sproßblättchen zeigen zu dieser Zeit überhaupt noch keine Plasmaabhebung. In Glycerin sind ähnliche Unterschiede festzustellen.

Harnstoff, der am normalen Material innerhalb von 5 Min. in allen Blättchen eines Stämmchens Plasmolyse hervorruft, vermag am Sommermaterial erst bei Anwendung einer zweimal so hohen Konzentration in den basalen Stammblättchen Plasmolyse zu bewirken, während sich die Blättchen des oberen Sproßteiles als unplasmolisierbar erweisen.

Ich interpretiere dieses unterschiedliche Verhalten so, daß die Dichte der Zellwand derart zugenommen hat, daß selbst der Durchtritt des kleinemolekularen Harnstoffes so stark gehemmt wird, daß in niederen Konzentrationen, infolge gleichzeitiger Permeation des Harnstoffes in die Vakuole, eine Plasmolyse nicht zustande kommen kann. Die Annahme einer erhöhten Harnstoffpermeabilität des Protoplasmas schaltet hier aus, da die an anderer Stelle besprochenen Permeabilitätsmessungen für dieses Material vielmehr eine Verminderung der Harnstoffpermeabilität ergeben. Diese geänderten Permeabilitätseigenschaften lassen auch auf eine Veränderung der plasmatischen Eigenschaften, wohl im Sinne einer herabgesetzten Wasserpermeabilität, schließen, die im Plasmolyseversuch selbst jedoch durch die noch größere Zellwanddicke überdeckt werden.

Am feucht kultivierten Material von *P. silvaticum* scheinen die Verhältnisse umgekehrt auf, hier ist gegenüber dem normalen Material eine leichtere Plasmolisierbarkeit zu beobachten, deren Ursache in einer Ab-



nahme der Zellwanddicke und der Viskosität der äußeren Plasmagrenzschichten zu suchen sein dürfte.

Es scheinen also Membran- und Plasmaeigenschaften bei den hier untersuchten Laubmoosarten durch geänderte Außenbedingungen weitgehend veränderbar zu sein. Reaktionsänderungen des Plasmas waren nach von anderen Pflanzen vorliegenden Befunden zu erwarten. Die Änderung der Zellwandbeschaffenheit scheint nur bestimmten Pflanzengruppen zuzukommen.

So stellte Härtel (1940) für schwerplasmolysierbare Hymenophyllaceenarten fest, daß der Diffusionswiderstand von deren Membran nach Vorbehandlung in Luft um vieles größer war als am normalen Material; nach Vorbehandlung in Leitungswasser weitaus geringer. Parallel zur leichteren Plasmolysierbarkeit ging außerdem eine intensivere Färbbarkeit sowie eine Abnahme der Viskosität des Zellinhaltes.

Diese Befunde, die weitgehende Übereinstimmung mit unseren Beobachtungen an den verschiedenen Moosarten zeigen, scheinen unsere obigen Annahmen sehr zu bestätigen. Inwieweit diese an einigen *Plagiothecium*-Arten gemachten Feststellungen Allgemeingültigkeit haben, wird durch Untersuchungen weiterer Arten aus verschiedenen Familien noch zu prüfen sein.

Ich verzichte darauf, den Plagiotheciaceen das Zellverhalten derjenigen pleurokarpen Laubmoose gegenüberzustellen, welche schwerste Plasmolysierbarkeit aufweisen und dadurch schon bei Limpricht in den Verdacht kamen, keinen „Primordialschlauch“ zu besitzen. Musterbeispiele dafür sind *Brachythecium rutabulum*, *Eurhynchium speciosum*, *Hypnum pallescens*. Ihnen wäre im gewissen Abstand, das schon bei Limpricht erwähnte *Scleropodium purum* anzureihen. Ich bespreche meine Versuche mit diesen Moosen erst später im Zusammenhang und ordne meine gesamten Erfahrungen der Nomenklatur Mönkemeyer folgend an.

#### 4. Das Plasmolyseverhalten weiterer Laubmoose

##### *Mniaceae:*

Die Arten der Gattung *Mnium* sind wohl am öftesten für Zellphysiologische Untersuchungen herangezogen worden. Für vergleichende Studien (Biebl 1954) sind ja *Mnium*-Arten besonders gut geeignet; dank der ökologischen Amplitude dieser Gattung (vgl. Abels Untersuchungen über Austrocknungsresistenz 1956), die ja Hygro-, Meso- und Xerophyten, alpine und Tieflands-Arten, Kalk und Kristallin bewohnende Arten umfaßt. Es wurden davon vier Spezies zum Teil verschiedenen ökologischen Standortes eingehender untersucht.

*Mnium cinclidioides* (Blytt.) Hübener. — Wurde als Flachmoorbewohner in der Umgebung von Tamsweg und auf quelligen Matten in den Dolomiten gesammelt.

Bei Einlegen älterer Blättchen in 1,0 mol Traubenzucker zeigen fast alle Zellen nach 5 Min. flach konkav abgehobene Protoplasten, vielfach auch Teilprotoplasten mit verbindenden Plasmafäden. Mitteljunge Blätter verhalten sich ähnlich, nur unterhalb der Blattspitze liegt rechts und links je eine Zone mit kleinen jungen Zellen, die erst nach 20 Min., ebenso wie die kleinen Zellen ganz junger Blättchen, stark konkave Plasmolyse zeigen.

In 1,0 mol Glycerin tritt nach 2 Min. stark konkave Plasmolyse in allen Zellen der Sproßbasisblätter und mittleren Blätter auf. Die Spitzenzellen der obersten Blätter sind erst nach 15 Min. konkav plasmolysiert.

In 1,0 mol Harnstoff tritt sowohl in den Stammspitzen- als Stammbasisblättern sofort konkave Plasmolyse ein, nur nimmt dieselbe in den Basisblättern konvexe Formen an, während in den Sproßspitzenblättern eine konkave Plasmolyseform beibehalten wird. Der sofortige Plasmolysebeginn der jungen Blätter in Harnstoff zeigt, daß für den verzögerten Eintritt der Plasmolyse in Traubenzucker und Glycerin nicht ein verstärktes Haftvermögen des Plasmas ausschlaggebend sein kann, sondern daß es sich hier wahrscheinlich um Unterschiede in der Membranpermeabilität handelt.

*Mnium stellare* Reich. — Ist auf neutralen Substraten an feucht-schattigen Stellen des Waldes zu finden.

Vollkommen unverletzte Blättchen mit einem Stück Stämmchen daran zeigen in 1,0 mol Traubenzucker stets nur eine Abhebung des Plasmas von der Blattbasis her, wie dies schon Brilliant (1927) für *Catharinea* beschrieben hat. Von hier aus schreitet die Plasmolyse keilförmig gegen die Blattspitze zu fort und hat nach 25 Min. alle Zellen erfaßt.

In 1,0 mol Glycerin erfolgt der Zutritt des Plasmolytikums ebenfalls nur von der Basis her. Von hier aus kommt es zu einer keilförmig gegen die Blattspitze zu fortschreitenden konkaven Plasmaabhebung in den Zellen bis etwa über die Blattmitte, die Zellen des oberen Blatteiles (Blattdrittels) bleiben in dieser Konzentration unplasmolysiert. Es scheint hier der Durchtritt durch die Membran schon so verlangsamt, daß die gleichzeitige Permeation des Glycerins in die Vakuole keine Plasmaabhebung mehr eintreten läßt.

Wird ein vom Stämmchen isoliertes Blättchen der Quere nach durchgeschnitten, so ist die basale Blatthälfte, infolge des Zutritts des Plasmolytikums vom Schnitttrand und der Basis her, nach 6 Min. durchplasmolysiert. Die obere Blatthälfte zeigt Plasmolyse nur in einer keilförmig vom Schnitttrand gegen die Blattspitze zu gerichteten Zone, während die Blattspitze selbst und die beiden Zonen rechts und links der Rippe, oberhalb des plasmolysierten Blatteiles, unplasmolysiert sind. Nach 20 Min. sind fast alle Zellen deplasmolysiert, wobei zum Teil eine Chloroplastenballung (Systrophe) zurückbleibt.

In 1,5 mol Glycerin reicht der von der Blattbasis gegen die Spitze zu gerichtete Keil plasmolysierter Zellen zwar etwas weiter als in 1,0 mol Glycerin, aber trotz des starken Überdruckes scheint sich der Ausgleich, infolge des stark gehemmten Durchtrittes des Lösungsmittels durch die Membran, ohne Plasmaabhebung zu vollziehen. Es scheinen also die Zellen der oberen Blatthälfte neben einer allen Blattzellen eigenen schwer durchlässigen Außenwand noch schwerer durchlässige Querwände zu besitzen. Daß die Zellen des oberen Blatteiles nicht unplasmolysierbar sind, zeigt der Versuch in Traubenzucker, welcher nach entsprechend langer Versuchsdauer Plasmolyse bewirkt, da der Ausgleich durch Permeation hier ja fehlt.

Die leichte Plasmolysierbarkeit zeigt ein Versuch in 1,2 mol Harnstoff.

Im basalen Blatteil erfolgt sofort Abhebung des Plasmas, die, keilförmig gegen die Blattspitze zu fortschreitend, nach 7 Min. alle Zellen erfaßt hat. Für den kleinstmolekularen Harnstoff ist also der Durchtritt durch die Membran schon so wenig behindert, daß alsbald Plasmolyse zustandekommt.

*Mnium cuspidatum* Leyss. — Wächst gerne am Grunde vermoderter Baumstümpfe im Buchenmischwald.

An dieser Spezies läßt sich sowohl in alten als in jungen Blättern Plasmolysebeginn stets in den Spitzenzellen und den Zellen des oberen Blattrandes feststellen. Es folgen die Basiszellen und die Zellen im Umkreis vor dem Versuch schon toter Zellen. (Ähnliches beobachten wir bereits an *Plagiothecium platyphyllum*). In jungen Blättern sind diese beiden Zutrittsstellen des Plasmolytikums die einzigen Orte, von denen die Plasmaabhebung weiter fortschreitet, bis sie in 1,0 mol Traubenzucker nach 60 Min. 95% der Zellen erfaßt hat. In älteren Blättern, wo das Plasmolytikum auch durch die Außenwände Zutritt, sind bereits nach 25 Min. alle Zellen plasmolysiert. Gewährt man in jungen Blättern durch Anschneiden dem Plasmolytikum auch durch die Außenwände Zutritt, so ist die angeschnittene Blatthälfte nach 25 Min. vollständig plasmolysiert, die unangeschnittene erst innerhalb von 60 Min. (s. Abb. 6).

Ganz ähnlich, nur zeitlich etwas rascher, verläuft die Plasmolyse in 1,0 mol Glycerin. Nach 10 Min. beginnen junge Blätter von der Blattspitze und -basis her konkav zu plasmolysieren. Ältere Blättchen zeigen beginnende Abhebung auch in den übrigen Laminazellen. Innerhalb von 15 Min. sind in älteren Blättchen fast alle Zellen konkav plasmolysiert. Jüngere Blättchen zeigen einen plasmolysierten keilförmigen basalen Blatteil und plasmolysierten Blattspitzenteil, während an den Blatträndern jeweils noch ein unplasmolysierter Abschnitt vorhanden ist. Nach 20 Min. ist auch dieser plasmolysiert.

In 1,0 mol Harnstoff beginnt nach 4 Min. die Plasmaabhebung in jungen und alten Blättern ebenfalls in den Spitzenzellen, von wo sie basalwärts fortschreitet. Nach 12 Min. sind die älteren Blätter bis zur Basis durchplasmolysiert. In den jungen Blättern bleiben die Basiszellen in 1,0 mol Harnstoff vielfach unplasmolysiert, erst 1,2 mol Harnstoff ruft Plasmolyse hervor. Die auch in den anderen Plasmolyticis zutage tretende schwerere Wegsamkeit der Basiszellen scheint für Harnstoff soviel auszumachen, daß die gleichzeitige Permeation in die Vakuole keine Plasmaabhebung eintreten läßt.

*Mnium spinosum*: (Voit) Schwgr. Ein Bewohner trockenen Waldbodens

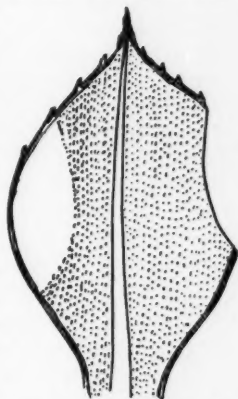


Abb. 6. *Mnium cuspidatum*, junges Blättchen in 1,0 mol Traubenzucker. Angeschnittene Blatthälfte nach 25 Min. vollständig plasmolysiert. Unverletzte Blatthälfte mit unplasmolysiertem Teil.

der oberen Bergregion. Es erwies sich von den untersuchten *Mnium*-Arten als am schwersten plasmolysierbar. Wegen des ebenfalls höheren osmotischen Wertes wurden zur Untersuchung konzentriertere Lösungen herangezogen.

Ein Stämmchen, in 1,5 mol Traubenzucker eingelegt, zeigt stets konkave Plasmaabhebung von der Blattbasis her entlang der Blattrippe. Es erfolgt also der Zutritt des Plasmolytikums nur von der Blattrippe. Dies zeigt auch deutlich ein Versuch mit querangeschnittenen Blättchen, an den das Plasmolytikum keineswegs vom ganzen Schnitttrand her eindringt, vielmehr wird längs der Blattrippe ein spitzkeilförmiger Anteil der Laminazellen plasmolysiert. Auch auf diesem Wege schreitet die Plasmolyse sehr langsam vor, und nach 1½ Stunden sind erst 5–6 Zellreihen rechts und links der Blattrippe plasmolysiert, im obersten Blattdrittel nur 1–2 Zellreihen. Die Blattspitze ist noch unplasmolysiert (Abb. 7). Natürlich kamen die Blättchen zwischen den Beobachtungen jedesmal in die Fläschchen mit überschüssigem Plasmolytikum zurück.

Wird ein Blatt längsangeschnitten, so setzt bereits nach 1 Min. vom Schnitttrand her eine konkave Plasmaabhebung ein, die in den Zellen gegen die Rippe zu fortschreitet, und nach 8 Min. ist der angeschnittene Blatteil bis zur Rippe durchplasmolysiert. Der unangeschnittene rechte Blatteil weist keinerlei Plasmolysebeginn auf. Hier beginnt das Plasmolytikum nur von der Basis, entlang der Rippe, zuzutreten.

Später erst tritt der Strom des Plasmolytikums in querrer Richtung über die Blattrippe hinweg auch an die Zellen der unangeschnittenen Blatthälfte und ruft dort Plasmolyse hervor, so daß nach 40 Min. der Blatteil, in der Breite des Schnittrandes, vollständig plasmolysiert ist. Auch jetzt noch ist der unangeschnittene Blattspitzenteil vollständig unplasmolysiert. Der unangeschnittene basale Blatteil ist infolge Zutritts des Plasmolytikums von der Basis und der Blattrippe konkav plasmolysiert (Abb. 8). Es sind bei diesem Moos sowohl Außen- als auch Querwände für Traubenzucker recht schwer durchlässig, die seitlichen Längswände hingegen recht gut.

Für Glycerin sind die Außen- und Querwände ebenfalls schwer permeabel. 5 Min. nach dem Einlegen in das Plasmolytikum kommt es basal, entlang der Blattrippe, zu einer bandförmigen Anordnung der Chloroplasten, der nach 15 Min. eine konkave Abhebung des Plasmas folgt. Auf diese Weise schreitet die Plasmolyse von der Blattrippe gegen die Spitze zu fort. An längsangeschnittenen Blättern werden die Zellen in der ganzen Schnittbreite von der Plasmolyse erfaßt, die sich in querrer Richtung im Blatt ausbreitet. Stets geht auch hier der nach 10–15 Min. eintretenden konkaven Abhebung eine bandförmige Anordnung der Chloroplasten voraus. An querangeschnittenen Blättchen erfolgt Plasmolyse nur von der Blattrippe her.

In Harnstoff konnte in niederen Konzentrationen keine Plasmolyse erzielt werden, auch nicht an angeschnittenen Blättchen. Erst von 3,0 mol Harnstoff kommt es kurz zu einer konkaven Abhebung in den Schnitttrandzellen und Nachbarzellen vor dem Versuch schon toter Zellen, von der nach 3–4 Min. nichts mehr zu sehen ist.

Wie aus den Versuchen hervorgeht, ergibt sich für die hier untersuchten *Mnium*-Arten allgemein, mit Ausnahme von *M. cinclidioides*, eine ganz erhebliche Unwegsamkeit der Außenwände für größermolekulare Stoffe. Sie zeigt sich zunächst in dem stets nur an der Basis der Blätter, beiderseits der Mittelrippe, beginnenden Plasmolyseeintritt, von wo aus die Abhebung

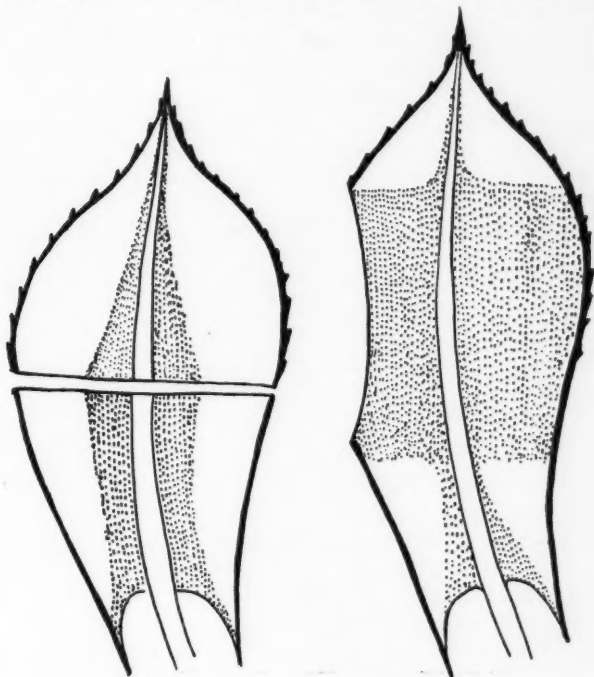


Abb. 7

Abb. 8

Abb. 7. *Mnium spinosum*. Blatt quer. Nach 1½ Stunden in 1,5 mol Traubenzucker. Punktiert: Plasmolysiert. Weiß: Unplasmolysiert.

Abb. 8. *Mnium spinosum*, Blatt längs angeschnitten. Nach 40 Min. in 1,5 mol Traubenzucker. Punktiert: Plasmolysiert. Weiß: Unplasmolysiert.

sich allmählich über die ganze Blattfläche hin ausbreitet, — in älteren Blättchen von *M. stellare* in Traubenzucker innerhalb von 25 Min., in denen von *M. spinosum* erst nach einigen Stunden.

Für Glycerin sind die Außenwände dieser beiden Moose schon etwas weniger schwer durchlässig, aber noch immer so wenig wegsam, daß die Spitzenzellen der Blättchen von *M. stellare* in 1,0 und 1,5 mol keine Plasmolyse zeigen, da infolge des stark gehemmten Durchtritts des Plasmolytikums durch die Außenwände die gleichzeitige Permeation des Lösungsmittels in die Vakuole keine Abhebung mehr zuläßt.

Dieser dichten Außenwand stehen viel wegsamere Seitenwände gegen-

über, was sich einerseits in der Ausbreitung der Plasmolyse von der Mittelrippe her zeigt, die aber besonders deutlich an längsangeschnittenen Blättchen in Erscheinung tritt. Solcherart gelingt es, in *M. spinosum*-Blättchen innerhalb von 40 Min. in Traubenzucker alle Zellen, in der Breite des Schnittandes, zur Plasmolyse zu bringen, während im unangeschnittenen Blattteil die Zellen unplasmolysiert bleiben.

Für Harnstoff ist die Außenwand von *M. stellare* schon recht gut wegsam, so daß die von der Basis entlang der Rippe beginnende Abhebung nach 7 Min. fast alle Zellen eines Blättchen erfaßt hat. Die Außenwand von *M. spinosum* hingegen ist für Harnstoff noch so wenig wegsam, daß infolge gleichzeitiger Permeation des Harnstoffes in die Vakuole erst Konzentrationen von 3,0 mol vorübergehende Plasmolyse hervorzurufen vermögen.

*M. cuspidatum* zeigt ebenfalls leichter wegsame Seitenwände als Außenwände. Während aber bei *M. stellare* und *M. spinosum* Plasmolysebeginn stets von der Basis her zu beobachten ist, beginnt hier die Abhebung zunächst in den Spitzenzellen der Blätter, dann erst folgen die Zellen der Basis. Von diesen beiden Orten breitet sich die Plasmolyse keilförmig aus.

Die Art des feuchtesten Standortes innerhalb der untersuchten *Mnium*-Arten ist somit durch die weitmaschigsten Außenwände gekennzeichnet, während die Art des trockensten Standortes sich durch die am dichtest gebauten Außenwände auszeichnet.

#### *Bryaceae:*

Aus den zahlreichen Arten der Gattung *Bryum*, deren weite Zellen sich für zellphysiologische Untersuchungen als recht günstig erweisen, wurde das schon von Biebl (1933 f.) und Mender (1938) untersuchte *Bryum capillare* ausgewählt. Das Plasmolyseverhalten ist recht ähnlich dem von *Mnium*-Arten mit mittelmäßigem Zellwandwiderstand.

*Bryum capillare* L. — Wächst in Form dichter, weicher Rasen auf Erde (Waldboden), in der Nähe alter Bäume, von Holzwerk und Gestein.

Blättchen, in 1,0 mol Traubenzucker eingelegt, zeigen nach 6 Min. in Umgebung toter Zellen konkaven Plasmolysebeginn. Nach 20 Min. zeigen die Laminazellen allgemein beginnende Abhebung von den der Blattbasis zugewendeten Querwänden, also einseitige Plasmolysen. Die Blattbasiszellen sind zu dieser Zeit noch unplasmolysiert; erst nach 35–40 Min. zeigen letztere konkave Plasmaabhebung. Nach ca. 1 Stunde sind 96% der Zellen plasmolysiert. Die Plasmolyseform der Zellen des mittleren und oberen Blatteiles ist einseitig konvex, die des basalen Blattdrittels konkav.

Längsangeschnittene Blättchen beginnen nach 3 Min. in den Zellen vom Schnitttrand her mit einer Loslösung des Plasmas, die nach 10 Min. fast alle Zellen des Blatteiles mit abgeschnittenem Blatttrand erfaßt hat. Die Membranen der Seitenwände sind also, analog den Befunden an *Mnium*-Arten, bedeutend weitmaschiger als die der Außenwände.

Der Unterschied im Widerstand von Außen- und Seitenmembranen besteht auch noch für Glycerin, obwohl dieses bereits kleinemolekularer ist. Längsangeschnittene Blättchen weisen in 1,0 mol Glycerin nach 1½ Min.



in sämtlichen Zellen konkave Plasmolysen auf. Unverletzte Blättchen zeigen nach 4 Min. in den Basiszellen konkav beginnende Abhebung, die allmählich die übrigen Blattzellen, zunächst die Spitzen- (nach 10 Min.) dann die Blattmittezellen erfaßt. Nach 30 Min. sind sämtliche Zellen einseitig konvex plasmolysiert, mit negativen Plasmolyseorten der Blattspitze zu, wie Bril liant (1927) solche für *Catharinea* beschrieben hat.

In Harnstoff ist die unterschiedliche Durchlässigkeit von Außen- und Seitenmembran nur mehr in geringem Ausmaß bemerkbar, und 1,0 mol Harnstoff führt bereits nach 3 Min. in den Spitzen- und Laminazellen zum Plasmolysebeginn. Die Zellen der Blattbasis folgen nach 2 Min. mit konkaver Plasmaabhebung.

Weitmaschigere Zellwände zeigte ein Vertreter aus der Gattung *Pohlia*, und zwar

*Pohlia Rothii* Broth. — Es wurde aus der Umgebung des Riesachsees in den niederen Tauern gesammelt.

In 1,0 mol Traubenzucker eingebrachte Blättchen zeigen nach 8 Min. konkave Abhebung in den Basiszellen. Nach 10 Min. folgen die Spitzenzellen und vereinzelt Zellen der Lamina. Nach 15 Min. lassen 96% der Zellen konkave bis flach konvex von den Querwänden abgehobene Protoplasten feststellen. Erwähnenswert ist der bei dieser Art wieder besonders hervortretende Unterschied zwischen jungen, grünen Blättchen und älteren, durch eine bräunliche Färbung der Membran gekennzeichneten Blättchen. Letztere zeigen bis zu 30 Min. früher 100%ige Plasmolyse als die jungen Blättchen.

In Glycerin sind die Basiszellen bereits nach 2 Min. konkav plasmolysiert. Nach 4 Min. folgen die Spitzen- und Laminazellen mit an den Längsseiten stark eingebuchteten Protoplasten. Nach 10 Min. geht diese Plasmolyseform allmählich in eine einseitig konvexe Form, mit der Blattspitze zugewendeten negativen Plasmolyseorten über.

In 0,8 mol Harnstoff kommt es nach 1 Min. verstreut in den Zellen der Blättchen zu einer konkaven Plasmaabhebung von den Querwänden. Innerhalb von 7 Min. sind fast alle Zellen plasmolysiert.

#### *Amblystegiaceae:*

Die Familie der Amblystegiaceen bildet einen großen Zweig der habituell verschiedenartigsten Typen. Sie ist nach Herzog (1926) weitgehend nordischer Verbreitung. Insbesondere sind es die *Depranocladus*-, *Calliergon*- und *Scorpidium*-Arten, die in der Zusammensetzung der Sumpfbildung der nördlichen gemäßigten Zone eine große Rolle spielen.

*Platyhypnidium rusciforme* Fleischer. — Ein in vorwiegend kalkreichen Gebirgsbächen allgemein verbreitetes Moos, wo es starre, dunkelgrüne Rasen bildet.

Grüne Stämmchen, in 1,0 mol Traubenzucker eingebracht, zeigen bereits nach 5 Min. in den Spitzenzellen der Blättchen eine Abhebung des Plasmas von den Querwänden. Die Blattbasiszellen zeigen konkaven Plasmolysebeginn. Nach 7 Min. sind auch die Laminazellen plasmolysiert.

In Glycerin ist ein ähnlicher Plasmolyseverlauf festzustellen. In 1,0 mol

Harnstoff tritt in den Blattspitzenzellen bereits nach 2 Min. Plasmolyse ein. Es folgen die Blattbasis- und die Laminazellen.

In 1,0 mol KCl erfolgt sofortige Plasmolyse in Blattspitze, Blattrand und Blattbasis.

*Hygrohypnum ochraceum* Loeske. — Wächst als kalkmeidendes Moos an Felsen und Steinen, in und an Bächen und Wasserfällen.

In 1,0 mol Traubenzucker zeigen Astblättchen nach 5 Min. in fast allen Zellen zweiseitig konvex abgehobene Protoplasten, die langen prosenchymatischen Laminazellen Teilprotoplasten.

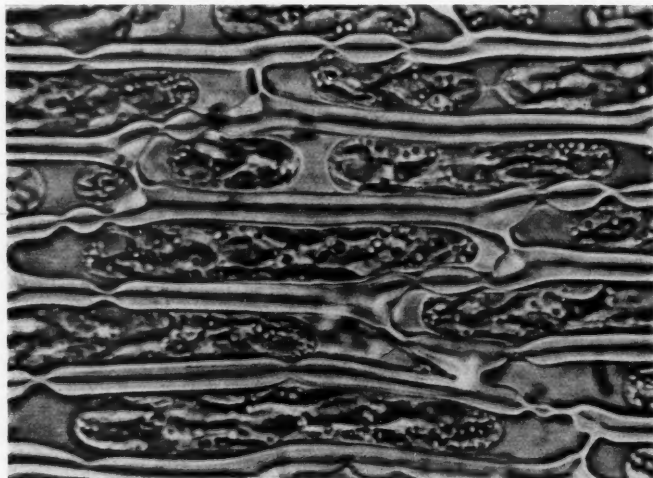


Abb. 9. *Scorpidium scorpioides*, 5 Min. in 1,0 mol Traubenzucker, gut konvex von den Querwänden abgehobene Protoplasten.

1,0 mol Glycerin ruft bereits nach 1 Min. Plasmolyse hervor.

In 1,0 mol Harnstoff kommt es zu sofortiger Abhebung des Protoplasmas, die in jungen Blättchen nach 10 Min. bereits wieder vollständig zurückgegangen ist. In älteren Blättchen erfolgt die Deplasmolyse etwas langsamer, und zwar schreitet dieselbe vom Basalteil der Blätter gegen die Spitze zu vor, so daß nach 15 Min., bis auf die äußersten Blattspitzenzellen, alle Zellen deplasmolysiert sind. In sehr alten Blättchen erfolgt die Deplasmolyse noch langsamer. Erst nach 20 Min. sind hier, bis auf die Blattspitzenzellen, alle Zellen deplasmolysiert. Nach 25 Min. ist auch in diesen die Plasmolyse zurückgegangen.

*Scorpidium scorpioides* Limpr. — Ist in stehenden Gewässern, Wassergräben, Tümpeln und Mooren vom Flachland bis ins Hochgebirge zu finden.

In 1,0 mol Traubenzucker zeigen die Blattzellen nach etwa 5 Min. beginnende Abhebung des Protoplasten (Abb. 9) von den Querwänden, und zwar die Blattspitzenzellen etwas früher als die Basiszellen. Es dürfte sich

hier um plasmatische Unterschiede handeln, da auch die Harnstoffpermeabilität der Blattspitzenzellen größer ist als die der Basiszellen. Ebenso ist, wie Deplasmolyseversuche zeigen, die Harnstoffpermeabilität der Sproßspitzenblätter größer als die der Sproßbasisblätter. (Deplasmolyse in der Blattspitze nach 7 Min., an der Basis nach 10–12 Min.) Der Plasmolyseeintritt erfolgt jedoch bei den verschiedenen alten Blättchen gleich schnell.

In 1,0 mol Glycerin erfolgt die Plasmaabhebung nach  $1\frac{1}{2}$  Min. gleichmäßig im ganzen Blättchen, in den Basiszellen zunächst konkav, in den Blattspitzen und übrigen Laminazellen flach konvex. Erwähnenswert ist hier die rasche Deplasmolyse in Glycerin, die innerhalb von 45 Min., bis auf einige basale Zellen, im ganzen Blatt eingetreten ist. Nach insgesamt einer Stunde sind alle Zellen deplasmolysiert.

*Calliergon Richardsonii* Kindb. — Dieses für Torf- und Sumpfwiesen charakteristische Moos wurde im Waldviertel in der Nähe von Karlstift gesammelt. Es besitzt ein sehr schönes, für protoplasmatische Untersuchungen recht geeignetes Zellnetz.

Bei diesem Moos tritt nicht nur in Harnstoff und Glycerin sofortiger Plasmolysebeginn ein, sondern auch Traubenzucker bewirkt sofortige Abhebung des Protoplasten. Die Plasmolyseform ist in den älteren, bräunlichen, basalen Sproßblättern konvex, in den jungen, grünen Blättern konkav mit starken Buchten. Nach 5–6 Min. gleichen sich diese konkaven Buchten etwas aus, beziehungsweise der Protoplast schnürt sich durch und zerfällt in zwei Teile, die an den Querwänden haften bleiben. In den älteren Blättchen kommt es zur Ausbildung zahlreicher Teilprotoplasten.

*Drepanocladus aduncus* Moenkem. — In Niedermooren, Auen und Seen vom Tiefland bis ins Hochgebirge allgemein verbreitetes Moos. Es zeigt gut wegsame Zellwände, sowohl der alten bräunlichen als auch der frischgrünen, jungen Blättchen.

In 1,0 mol Traubenzucker tritt in alten und jungen Blättchen innerhalb von 1– $1\frac{1}{2}$  Min. Plasmaabhebung ein, die in den älteren Blättchen von zweiseitig konvexer Form ist, in den jungen Blättchen zunächst mehr konkav. In den langen, prosenchymatischen Laminazellen finden sich zahlreiche Teilprotoplasten.

In Glycerin ist das Verhalten ganz ähnlich.

In Harnstoff kommt es zu sofortiger Plasmolyse, die nach 15 Min. wieder zurückgegangen ist.

Die hygrophytische Lebensweise der hier zur Untersuchung gelangten *Amblystegium*-Arten kommt sehr deutlich in dem weitmaschigen Membranbau dieser Moose zum Ausdruck. Die ausgewählten Spezies lassen einen kaum nennenswerten Zellwandwiderstand feststellen, d. h. sie zeigen beste Plasmolysierbarkeit. Die kurzen Deplasmolysezeiten in Harnstoff lassen daneben auf eine gute Permeabilität des Plasmas für diesen Stoff schließen, die in jungen Moosblättchen stets größer ist als in den alten Blättchen. Innerhalb eines Blättchens ändert sich die Harnstoffpermeabilität bei den verschiedenen Moosen jedoch, wie schon Kressin (1935) feststellte, nicht in derselben Richtung. *Hygrohypnum ochraceum* zeigt zum Beispiel in den Blattbasiszellen eine kürzere Deplasmolysezeit als in

den Spitzenzellen; bei *Scorpidium scorpioides* ist gerade der umgekehrte Fall zu beobachten.

#### *Brachytheciaceae:*

Nach Herzog (1926) ist die Gattung *Brachythecium*, als die größte dieser Familie, ausgesprochen kosmopolitisch, mit einem Dichtigkeitsmaximum in der borealen Waldregion und ihren Gebirgen. Die Gattung *Eurhynchium* ist auf die nördliche Halbkugel beschränkt, jedoch mit deutlicher Neigung zu wärmeren, gemäßigten Lagen, so daß das europäische *Eurhynchium*-Areal mit der Verbreitung der Buche in Deckung zu bringen ist. Ebenfalls der nördlichen Hemisphäre gehört *Scleropodium* an.

Innerhalb dieser Familie, deren Gattungen beziehungsweise Arten Limpricht (1904) merkwürdigerweise nach dem Vorhandensein beziehungsweise Fehlen des Primordialschlauches in den Blattzellen voneinander scheidet, sind die schwerst plasmolysierbaren Arten zu finden. Allgemein sind diese Moose auch infolge eines meist recht engen Blattzellnetzes für zellphysiologische Untersuchungen wenig geeignet.

*Brachythecium rivulare* Bruch. — Besiedelt, vorwiegend im Gebirge, klare, kalte Bäche im Verein mit *Platyhypnidium rusciforme* (Herzog 1943, Herzog und Höfler 1944).

Das Blattzellnetz ist charakterisiert durch breitere Blattspitzen und -basiszellen und schmale prosenchymatische Laminazellen.

In 1,0 mol Traubenzucker tritt nach 10 Min. konvexe Abhebung der Protoplasten in den Zellen von der Blattspitze und dem Blattrand her ein. Nach 15–20 Min. folgen die Zellen der Blattmitte mit konvexer Plasmaabhebung.

In 1,0 mol Glycerin sind die nach 8–10 Min. auftretenden Plasmolyseformen zunächst etwas konkav, besonders in den Laminazellen, erst später erfolgt Abrundung der Protoplasten.

In 1,0 mol Harnstoff erfolgt der Plasmolysebeginn bereits nach 2–3 Min. von der Blattspitze her.

Wird ein solcher Moosrasen durch einige Wochen hindurch in Kultur relativ trocken gehalten, und dann Stämmchen zu Versuchen herangezogen, so ist in deren Blättchen in 1,0 mol Traubenzucker keine Plasmolyse zu erzielen, nur an den angeschnittenen Blättchen kommt es, an den verletzten Zellen, zu einem Austreten von Plasmakugeln. Erst in 2,0 mol Traubenzucker erfolgt nach 15 Min. von der Blattspitze her eine konvexe Abhebung der Protoplasten.

In Harnstoff erfolgt erst in 3,0 mol nach 1 Min. Plasmolyseeintritt, und zwar ebenfalls von der Blattspitze und dem oberen Blattrand her. Nach 2 Min. sind auch die Laminazellen plasmolysiert. Nach 20 Min. erfolgt bereits Rückgang der Plasmolyse.

*Brachythecium rutabulum* Br. eur. — Findet sich in vielen Formen weitverbreitet auf Erde, Gestein, Holz und Wurzeln in Wäldern und Wiesen. Es ist dies eines der Moose, an denen ich keine normale Plasmolyse beobachten konnte.

In Traubenzucker und Glycerin ist in Konzentrationen von 1,0–2,0 mol

noch nach 2 Stunden in keinem der Blättchen eines Stämmchens Plasmaabhebung festzustellen.

In 1,0 mol Harnstoff kommt es nach 2 Min. in den Blattbasiszellen und den Zellen der Blattmitte zu einer konkav-konvexen Abhebung des Plasmas; kurz danach auch in den Blattspitzenzellen. In langgestreckten Zellen — Teilprotoplasten. Diese stehen durch Plasmastränge in Verbindung. Nach ca. 18 Min. erfolgt jedoch, zunächst vereinzelt, dann in immer mehr Zellen eine ruckartige Rückdehnung des Protoplasten infolge Zerplatzen der Vakuole. Es tritt eine Entmischung des Zellinhaltes ein, wobei die Plastiden stark aufgequollen und granuliert erscheinen. Die Zellwand, die für Traubenzucker und Glycerin impermeabel ist, ist für Harnstoff also bereits so gut permeabel, daß binnen weniger Minuten das Plasma sich von der Membran abhebt und der sich verkleinernden Vakuole nachfolgt. Die rasche, größtenteils nekrotische verlaufende Deplasmolyse läßt allerdings schließen, daß diese Abhebung unter starker Schädigung der äußeren Plasmagrenzschichten vor sich geht, wohl bedingt durch eine sehr starke Adhäsion des Plasmas an die Membran.

*Eurhynchium striatum* Schpr. — Wächst besonders auf frischen, kräftigen Standorten mit gutem Humuszustand im Fichtenwald. Es ist in seiner Hauptverbreitung auf die guten Waldböden beschränkt.

Entsprechend dem höheren osmotischen Wert wurden die Plasmolytica zu den Versuchen in höheren Konzentrationen verwendet. Wird ein Stämmchen in 2,0 mol Traubenzucker gebracht, so zeigen die Blättchen nach 25–30 Minuten in den Blattspitzenzellen und den Zellen des obersten Blattdrittels zweiseitige Abhebung des Plasmas von den Querwänden. In den Blattbasiszellen kommt es zur Teilprotoplastenbildung. Die schmalen Laminazellen weisen entsprechend ihrer Zellform nur ganz schwach von den Querwänden abgehobene Protoplasten auf.

In 2,0 mol Glycerin erfolgt der Plasmolyseeintritt kaum rascher, und zwar zunächst in den Blattspitzenzellen, dann in den Basiszellen.

In Harnstoff sind bereits nach 5 Min. fast alle Zellen konkav plasmolysiert (geschlängelte Protoplasten). Nach 17 Min. nehmen die Protoplasten allmählich zweiseitige flach konvexe Formen an. In den langen schmalen Laminazellen kommt es zur Teilprotoplastenbildung. Die Verzögerung des Plasmolyseeintrittes zwischen Blattspitzen, -basis und -laminazellen ist in Harnstoff also nur mehr sehr gering.

Verwendet man zu den Versuchen Blätter alter Sprosse, so ist in keinem der Plasmolytica Plasmolyse zu erzielen. Ebenfalls als unplasmolysierbar erweisen sich jüngere lufttrockene Blätter. Schneidet man solche junge Blätter an und legt sie in eines der Plasmolytica, so kommt es an den angeschnittenen Zellen vielfach zu einem Austreten des Zellinhaltes. Die unverletzten Blättchen bleiben unplasmolysiert.

*Eurhynchium speciosum* Milde. — Findet sich vor allem im Flachland in Auwäldern und an nassem Gestein.

An diesem Moos konnte ich trotz mehrmaliger Versuche an verschiedenen Material keine normale Plasmolyse erzielen. Unverletzte Blättchen lassen in keinem der Plasmolytica — Traubenzucker, Glycerin und Harn-

stoff — Plasmaabhebung feststellen. In angeschnittenen Blättchen treten ähnlich wie am unplasmolysierbarem Material von *Eurhynchium striatum* aus den verletzten Zellen Plasmakugeln aus, an deren Oberfläche Plastiden angelagert sind (Abb. 10). Selbst in Elektrolytlösungen wie  $\text{KNO}_3$  und  $\text{KCl}$  ist keine Plasmolyse zu erreichen, auch nicht in höheren Konzentrationen. Nur  $\text{KCNS}$  führt in einer Konzentration von 2,0 mol binnen weniger Minuten zu einer Zusammenziehung des Zellinhaltes, der jedoch alsbald platzt.

*Eurhynchium Swartzii* Hobk. — Die flach ausgebreiteten Rasen dieses Mooses sind auf frischem Waldboden (Laubwald) und Grasplätzen zu finden.

Blättchen älterer, bräunlicher Stämmchen zeigen in 1,5 mol Trauben-

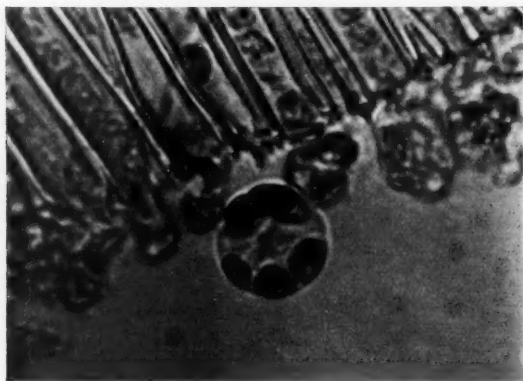


Abb. 10. *Eurhynchium speciosum*, Blättchen 20 Min. in 1,2 mol Traubenzucker — keine Plasmolyse. Bei Anschneiden der Blättchen Austreten von Plasmakugeln aus den verletzten Zellen.

zucker nach 15 Minuten in den Basiszellen konkave Abhebung des Protoplasten, an Blattspitzen und Blattzähne einseitig von den Außenwänden abgehobene Protoplasten. Von Blattspitze, -rand und -basis schreitet die Plasmolyse nun weiter vor, indem sich die Zahl der Zellen mit von den Querwänden abgehobenen Protoplasten anfangs schneller, später langsam in Richtung Blattmitte, zwischen Basis und Spitze, vergrößert. Nach  $1\frac{1}{2}$  Stunden sind 95% der Zellen zweiseitig plasmolysiert.

An jungen Stämmchen sind zu dieser Zeit eben erst die Basis- und Laminazellen der basalen Sproßblättchen konkav beziehungsweise längsseitig abgehoben. Blattspitzenzellen und obere Sproßblättchen sind unplasmolysiert.

In 1,0 mol  $\text{KCl}$  plasmolysieren alte Stammblättchen sogleich nach dem Einlegen in das Plasmolytikum, und zwar alle Blattzellen gleich schnell. Blättchen junger, hellgrüner Stämmchen zeigen erst nach 2 Minuten beginnende Plasmolyse mit gleich raschem Plasmolyseeintritt in allen Blattzellen.

Untersuchungen in Glycerin und Harnstoff fehlen hier. Aus dem Plas-



molyseverlauf in Traubenzucker und dem in KCl ist jedoch ein bedeutender Diffusionswiderstand der Membran für den großmolekularen Stoff zu erkennen, besonders an jungen Blättchen.

*Scleropodium purum* Limpr. ist ein auf kalkhaltigem, gutem, oft etwas feuchtem Waldboden bis gegen die Waldgrenze häufig verbreitetes Moos und zählt zu den sehr schwer plasmolysierbaren Moosarten.

Bei Einlegen von Stämmchen in 1,5 mol Traubenzucker treten erst nach

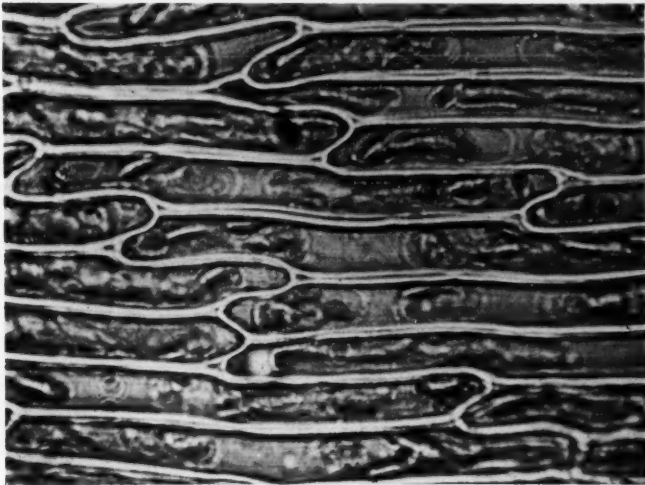


Abb. 11. *Scleropodium purum*, Mittleres Stammblättchen. Konvexe Teilprotoplasten nach 3 Stunden in 1,5 mol Traubenzucker.

1½ Stunden in den Blattzellen konkave Plasmaabhebungen auf. Nach weiteren 3 Stunden beginnt in den mittleren Stammblättchen, besonders in den Spitzen und Randzellen, zum Teil auch in den Laminazellen, eine Abrundung der Protoplasten. In den langgestreckten Zellen bilden sich Teilprotoplasten (Abb. 11), die durch Plasmafäden verbunden sind. Die Basiszellen zeigen noch konkave Plasmolyseformen. Konvexe Plasmolyseform nehmen auch die Protoplasten der Spitzenzellen der jüngsten Blättchen an. Die älteren bräunlichen Blättchen zeigen hingegen allesamt ausgesprochen konkav gebuchtete Protoplasten.

In Glycerin kommt es bereits nach 30 Min. zur Plasmaabhebung, in den Basiszellen häufig nur einseitig, in den Laminazellen unter Teilprotoplastenbildung. In den Blattspitzenzellen bleiben die Teilprotoplasten vielfach an den Querwänden haften.

In 1,5 mol Harnstoff erfolgt nach 10–15 Min. in fast allen Zellen Abhebung des Plasmas von den Querwänden.

In 1,2 mol Erythrit kommt es in vereinzelten Basalzellen zu konkaven

Einbuchtungen des Protoplasten, nach 1 Stunde auch in den Blattlamina- und Spitzenzellen.

In 1,0 mol KCl sind nach 2 Min. die Blattspitzenzellen und basalwärts der Blatttrand mit Blattbasis plasmolysiert. Nach 6 Min. zeigen die Laminazellen konkave Abhebung von den Längs- und Querwänden, in jungen Sproßspitzenblätter insbesondere Teilprotoplasten mit dicken Plasmasträngen zwischen den einzelnen Protoplasten.

Fassen wir die an den *Brachytheciaceae* gewonnenen Versuchsergebnisse zusammen, so läßt sich folgendes festhalten. Die beste Plasmolysierbarkeit unter normalen Bedingungen zeigt *Brachythecium rivulare*. Es besitzt die weitmaschigsten Zellwände, was seinen ökologischen Standortverhältnissen ganz entspricht. Diese gute Membranwegsamkeit ist allerdings durch Trocknung im Sinne einer verminderten Durchlässigkeit stark veränderbar, eine Tatsache, wie wir sie bereits an *Plagiothecium*- und *Mnium*-Arten feststellen konnten.

Als noch gut permeabel für Traubenzucker und Glycerin erweisen sich die Zellwände normalen Materials von *Eurhynchium striatum*, nicht aber die Membranen luftgetrockneten Materials, das infolge der oben geschilderten Veränderungen selbst in Harnstoff unplasmolysierbar ist. *Eurhynchium Swartzii* zeigt ähnliches Plasmolyseverhalten. An diesem Moos ist auch recht deutlich die unterschiedliche Membranpermeabilität junger und alter Blättchen zu sehen. Die Zellwände von *Scleropodium purum* sind für den großmolekularen Traubenzucker schon sehr schwer permeabel und 1,5 mol führt erst nach 1½ Stunden zu konkaver Plasmaabhebung. Selbst der kleinemolekulare Harnstoff, der am normalen Material von *Br. rivulare* bereits nach 2–3 Min. Plasmolyse bewirkt, führt bei *Scleropodium purum* erst nach 10–15 Min. zu einer Plasmaabhebung.

Die dichtesten Zellwände weisen *Br. rutabulum* und *E. speciosum* auf, die für Traubenzucker und Glycerin, bei *E. speciosum* selbst für Harnstoff undurchlässig scheinen. Bei letzterem vermag nur KCNS in einer Konzentration von 2,0 mol Plasmaabhebung zu bewirken. Das Plasmolyseverhalten dieser Moose zeigt große Ähnlichkeit mit dem luftgetrockneten Material, insofern nur Elektrolyte Plasmolyse zu bewirken vermögen und zwar, wie *E. speciosum* zeigt, um so eher, je stärker die quellende Wirkung des entsprechenden Alkalisalzes ist. Ursache der Plasmolysierbarkeit dieser nicht-plasmolysierbaren Moose in den Alkalisalzen scheint daher nicht allein das kleine Molvolumen der Lösungsteilchen zu sein, sondern insbesondere die quellende Wirkung der Elektrolyte auf Membran und äußere Plasmagrenzschichten, wodurch einerseits die Membranpermeabilität erhöht, andererseits die Adhäsion des Plasmas an der Membran vermindert wird. Daß diesen Moosen ein starkes Haftvermögen des Plasmas eigen ist, darauf läßt auch die stets unter Zerstörung der äußeren Plasmagrenzschichten erfolgende Abhebung schließen.

#### *Rhytidiaceae:*

Aus dieser Familie wurden einige Vertreter der Gattung *Rhytiadiadelphus* untersucht, die, nach Herzog (1926) insbesondere in der mittleren und oberen Bergregion zur Bildung von Massenvegetationen neigt.

*Rhytidiadelphus loreus* Warnst. wurde zusammen mit *Plagiothecium undulatum* in einem halbschattigen, mittelalten Fichtenbestand auf Gneisunterlage in Hüttschlag (Großarlal) gesammelt. Es zeigt für großmolekulare Stoffe wenig gut durchlässige Zellwände.

Traubenzucker ruft in Konzentrationen von 1,2 mol erst nach 20 Min. in den Blattbasiszellen und in Nachbarzellen toter Zellen konkave Abhebung der Protoplasten hervor. Nach 40 Min. beginnen die prosenchymatischen Laminazellen zu plasmolysieren und zwar in der Weise, daß sich von den



Abb. 12. *Rhytidiadelphus loreus*, 45 Min. in 1,2 mol Traubenzucker. Konkaver Plasmolyseeintritt von den Längswänden her, mit an den Querwänden haftenbleibenden Teilprotoplasten.

Längswänden her im Protoplasten eine konkave Einbuchtung bildet, die ihn schließlich in zwei Teile teilt, von denen je einer an einer Querwand haften bleibt (Abb. 12). Oft kommt es auch nur zu Ausbildung stark konkaver Buchten. Nach 1½ Stunden ist auch in den Zellen der langen Blattspitze allenthalben schwacher Plasmolyseeintritt festzustellen. Erst nach 3 Stunden weisen durchweg alle Zellen von den Querwänden abgehobene Protoplasten auf, zum Teil, besonders in der oberen Blathälfte, sogar mit konkaven Minisken und Teilprotoplasten.

In 1,2 mol Glycerin erfolgt konkaver Plasmolyseeintritt bereits nach 3 Min. Fast gleichzeitig beginnt in den Laminazellen eine Abhebung von den Längswänden. Nur die Zellen in Umgebung toter Zellen zeigen eine Abhebung von den Querwänden, nach 8 Min. auch die Blattspitzenzellen. Nach 15 Min. sind in allen Zellen schwache Plasmaabhebungen festzustellen. Allmählich beginnen sich die längsseitig abgehobenen Protoplasten der Laminazellen konkav einzubuchten und durchzuschüren, wobei es zur

Teilprotoplastenbildung kommt. Die Form derselben ist in den Zellen der unteren Blatthälfte nach 1½ Stunden noch ausgesprochen konkav, in den Zellen der oberen Blatthälfte konvex. Erst nach 2 Stunden zeigen die basalen Blattzellen abgerundete Protoplasten. Auffallend ist die große Zahl der Teilprotoplasten in den Basiszellen, die untereinander durch die Tüpfel durch Plasmastränge in Verbindung stehen.

In 1,2 mol Harnstoff erfolgt nach 1½ Min. Plasmolysebeginn von der Blattspitze her, zum Teil unter Abhebung von den Querwänden, zum Teil unter Bildung von an den Querwänden haftenden Teilprotoplasten. Nach 3 Min. sind fast alle Zellen plasmolysiert. Der Plasmolysegrad ist recht gering und es erfolgt bereits nach 6 Min. Deplasmolyse. Zuerst in der Blattspitze, von hier basalwärts fortschreitend hat sie nach 6 Min. alle Zellen erfaßt.

*Rhytidiadelphus triqueter*. Warnst. — Eines unserer stattlichsten pleurokarpn Moose, das von der Ebene bis in die Bergregion an trockenen und an feuchten Orten massig verbreitet ist. Es scheint eine weniger dichte Zellwand zu besitzen als *R. loreus*.

In 1,0 mol Traubenzucker erfolgt in mittelalten, grünen Blättchen bereits nach 1 Min. Abhebung des Plasmas in den Basis- und Laminazellen, die nach 4 Min. auch die Blattspitzenzellen erfaßt hat. Die Plasmolyseform ist konkav, mit starken Buchten und dicken Plasmabrücken von den Protoplasten an die Längswände und besonders an die Stellen, wo Tüpfel die Zellwand durchbrechen. Durch sie stehen die Protoplasten benachbarter Zellen miteinander in Verbindung. Eine Abrundung der konkaven Protoplasten ist erst nach ca. 10 Stunden feststellbar, ebenso die Bildung von Teilprotoplasten in den langen prosenchymatischen Zellen.

In 1,0 mol Glycerin beginnt nach ½ Min. Plasmaabhebung in den Basiszellen. Es folgen die Blattspitzen und Laminazellen innerhalb von 4 Min. Die Loslösung erfolgt vor allem von den Längswänden, wobei aber keine so starken Buchten zustande kommen wie in Traubenzucker. Nach 35 Min. beginnt in den Blattspitzenzellen eine Abrundung der Protoplasten, die nach 3–4 Stunden alle Zellen erfaßt hat.

Harnstoff vermag erst in Konzentrationen von 1,2 mol deutlich wahrnehmbare Plasmolysen hervorzurufen, und zwar bewirkt er sofortige zweiseitig, flach-konvexe Abhebungen in den Blattspitzenzellen. Nach 4–5 Min. zeigen alle Zellen schwach abgehobene Protoplasten. Diese geringfügige Plasmolyse ist nach 10 Min. bereits wieder vollständig verschwunden.

#### *Hylocomiaceae:*

*Hylocomium splendens* (Hedw.) Br. eur. — Das durch einen stockwerkartigen Sproßaufbau charakterisierte Moos findet sich allgemein verbreitet in Wald, Wiese und Moor bis ins Hochgebirge.

Es verhält sich hinsichtlich der Geschwindigkeit des Plasmolyseeintrittes in Traubenzucker und Glycerin ganz ähnlich wie *R. triqueter*. Nur erfolgt die Abhebung fast immer sogleich von den Querwänden, beziehungsweise es kommt zur Teilprotoplastenbildung, wobei die Protoplastenteile an den Querwänden haften bleiben.

Desgleichen bewirkt 1,2 mol Harnstoff sofortige Abhebung des Protoplasten von den Querwänden in allen Zellen, die innerhalb von 5–10 Min. wieder verschwunden ist.

#### *Grimmiaceae:*

Diese Familie setzt sich vor allem aus Felsbewohnern zusammen, von denen, nach Herzog (1926), mehr als 50% kalkfeindlich sind. Auch die Gattung *Racomitrium* gilt in Europa als ausgesprochener Kieselzeiger. Das wellig gebaute Zellnetz der aus dieser Gattung ausgewählten Spezies erweist sich für zellphysiologische Untersuchungen wenig günstig.

*Racomitrium aciculare* Bred. — Wurde auf feucht, schattigen Felsen und Gestein in der Umgebung der Preintalerhütte gesammelt.

In 1,2 mol Traubenzucker kommt es nach 5 Min. in den mehr runden Zellen der oberen Blatthälften zu einer schwachen Zurückziehung des Protoplasten rundum von den Zellwänden. Dieser geringe Plasmolysegrad wird nun allerdings in höheren Konzentrationsstufen nicht mehr verstärkt. Es scheinen hier die großen, die Zelle fast ganz erfüllenden Plastiden eine weitere Volumsverkleinerung des Protoplasten nicht zuzulassen. Daß der Formwiderstand fester Plastiden die Form des abgehobenen Protoplasten bestimmen kann, wurde bisher insbesondere an Algen (Weber 1925, Eibl 1939, Krebs 1931) von Abel 1956 auch an Moosen beobachtet. Die basalen Blattzellen zeigen nach 7 Min. schwache Abhebung des Plasmas von den Zellbuchten an Längs- und Querwänden. Diese Zellen, denen die großen Plastiden fehlen, zeigen eine deutliche Zunahme des Plasmolysegrades mit ansteigender Konzentration des Plasmolytikums.

In 1,2 mol Glycerin, wo bereits nach 5 Min. Abhebung des Protoplasten rundum von der Membran zu beobachten ist, verhalten sich apikale und basale Blattzellen wie in Traubenzucker.

1,2 mol Harnstoff vermag nur in den apikalen Blattzellen nach 1 Min. vorübergehende schwache Abhebung hervorzurufen, während die langgestreckten, basalen Blattzellen unplasmolysiert bleiben, wie die älteren Blättchen mit etwas bräunlich gefärbten Zellwänden. Erst in 1,3 mol ist in allen Zellen eines Blattes Plasmolyse zu erzielen, die nach 15–20 Min. wieder zurückgegangen ist.

*Racomitrium hypnoides* Lindb. — Auf kalkarmen Gestein im Gebirge, zum Teil auch in der Niederung allgemein verbreitetes Moos. Die Zellwände scheinen bei dieser Spezies dichter gebaut zu sein als bei *R. aciculare*.

In 1,5 mol Traubenzucker erfolgt nach 15 Min. in den Zellen der oberen Blatthälfte Abhebung des Plasmas von den Membranbuchten und Zellecken (Abb. 13). Allmählich tritt Plasmolyse auch in der basalen Blatthälfte ein. Die Basiszellen sind aber nach 2 Stunden noch immer unplasmolysiert. Erst nach 2½ Stunden ist in allen Zellen eine deutliche Abhebung, namentlich von den Längswänden festzustellen.

1,5 mol Glycerin ruft in den apikalen Blattzellen bereits nach 5 Min. Abhebung des Protoplasten von den Zellwandbuchten hervor. Vereinzelt

folgen die basaleren Laminazellen. Die Basiszellen sind nach 30 Min. noch unplasmolysiert. Nach 1 Stunde ist in allen Zellen Plasmolyse eingetreten.

In 1,5 mol Harnstoff kommt es innerhalb von 2 Min. zu deutlich sichtbarer Abhebung von den Zellsbuchten und Querwänden in fast allen Zellen, die nach 15 Min. wieder verschwunden ist.

Dem trockeneren Standort entsprechend, scheint die Zellwand von *Rh. hypnoides* etwas dichter gebaut zu sein. Bei *Rh. aciculare* sind es die großen, die Zelle fast ganz ausfüllenden Plastiden, die einen normalen Plasmolyseverlauf verhindern.

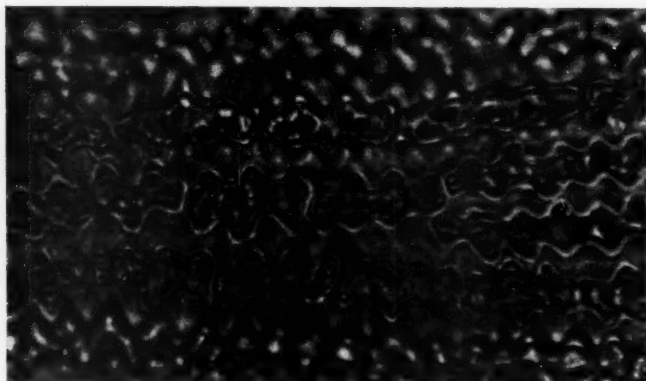


Abb. 13. *Rhacomitrium hypnoides*, 30 Min. in 1,2 mol Traubenzucker. Schwache Abhebung des Protoplasmas von den Membranbuchten und Zellecken.

Einzelarten aus verschiedenen Familien:

*Aulacomnium palustre* var. *imbricatum* Br. eur. — Ein Sumpfmoss in Flach- und Hochmooren.

Innerhalb von 3 Min. sind in 1,2 mol Traubenzucker und Glycerin in allen Blattzellen die Protoplasten konvex abgerundet. In 1,2 mol Harnstoff tritt nach 30 Sek. konvexe Plasmaabhebung ein.

Die, auch für großmolekulare Stoffe, leicht wegsamen Zellwände sind für den feuchten Standort bezeichnend.

*Climacium dendroides* Weber et Mohr. — Häufig auf sumpfigen Waldwiesen; im Gebirge findet es sich auf quelligen Matten.

Nach  $\frac{1}{2}$  Min. sind in 1,0 mol Traubenzucker und auch in Glycerin die Zellen alter und mittlerer Blättchen zweiseitig konvex plasmolysiert (Abb. 14). Die Zellen der Sproßspitzenblättchen zeigen erst nach 2 Min. Abhebung von den Querwänden. — In 1,0 mol Harnstoff kommt es zu sofortiger Plasmolyse, die nur in den Sproßspitzenblättern um  $\frac{1}{2}$  Min. verzögert ist. Nach 17 Min. sind alle Zellen deplasmolysiert.

Die weitmaschigen Zellwände stimmen mit der leicht hygrophytischen Lebensweise dieses Mooses gut überein.



*Thuidium tamariscinum* Br. eur. — Wächst als feuchtigkeits- und schattenliebendes Waldbodenmoos besonders im Fichten-Tannenwald.

Die Zellen alter und junger Blättchen sind in 1,2 mol Traubenzucker, ebenso in Glycerin nach 3 Min. flach-konvex plasmolysiert. In 1,2 mol Harnstoff kommt es nach  $\frac{1}{2}$  Min. zu einer geringen Plasmaabhebung; in den Sproßspitzenblättchen nur in den Basiszellen, die nach 6 Min. wieder vollständig zurückgegangen ist. Material von einem, zur Zeit des Sammelns trockenen Standort erwies sich als unplasmolysierbar.

*Pteryginandrum filiforme* Hedw. — Findet sich auf Bäumen und Felsen in der Bergregion.

In 1,2 mol Traubenzucker erfolgt nach 2 Min. in allen Blattzellen Ab-

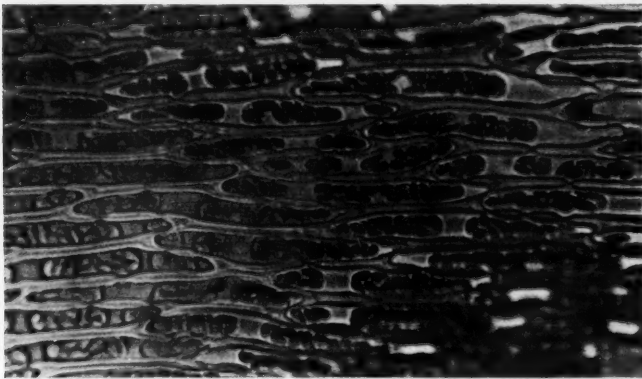


Abb. 14. *Climacium dendroides*, 15 Min. in 1,0 mol Traubenzucker. Konkav-konvexe Abhebung der Protoplasten unter zahlreicher Teilprotoplastenbildung.

hebung des Plasmas, in den Zellen der Blattlamina einseitig konvex mit positivem Plasmolyseort der Blattspitze zu, in der langen Priemenspitze ebenfalls einseitig konvex mit positivem Plasmolyseort der Blattspitze zu. Nach 6 Min. sind vielfach zweiseitige Plasmolysen festzustellen.

Für Glycerin sind Außen- und Querwände der Zellen bereits gleich gut permeabel, wie aus der nach 2 Min. in allen Zellen eintretenden konkaven Plasmaabhebung zu schließen ist.

In Harnstoff erfolgt Plasmolysebeginn nach 1 Min. mit größtenteils zweiseitig abgerundeten Protoplasten. Nach 17 Min. sind außer den Basiszellen alle Zellen deplasmolysiert, jene deplasmolysieren erst nach 20 Min.

Dieses Moos zeigt ebenfalls nur einen geringen Membranwiderstand, doch treten mit zunehmendem Molvolumen der Plasmolytica Unterschiede im Membranbau zwischen Außen-, Quer- und Längswänden deutlich hervor.

*Hypnum pallescens* Br. eur.:

An dem mir von diesem Moos zur Verfügung stehendem Material konnte ich in den Anektrolyten, Traubenzucker, Glycerin und Harnstoff keine

Plasmolyse erzielen, nur in KCl erfolgte vorübergehende Abhebung des Plasmas.

In 1,0 mol KCl tritt nach 10 Min. in den parenchymatischen Blattbasiszellen konvexe Abhebung des Protoplasten ein. Die prosenchymatischen Zellen der unteren Blatthälfte zeigen nur schwache Zurückziehung der Protoplasten von den Zellecken. Die Zellen gegen die Blattspitze zu sind unplasmolysiert. Innerhalb von 20 Min. ist die Plasmolyse zurückgegangen.

In Traubenzucker und Glycerin ist keine Plasmolyse zu erzielen, auch nicht in höheren Konzentrationen. Nur an angeschnittenen Blättchen kommt es in 1,0 mol Traubenzucker am Schnitttrand zu einem Austreten des Zellinhaltes aus den verletzten Zellen in Form von Kugeln mit anhaftenden Plastiden.

2,0 mol Harnstoff führt ebenfalls zu keiner Plasmolyse, nur Austreten von Plasmabällen wurde wieder beobachtet. Werden die Blättchen im apikalen Teil angeschnitten, so treten vom Zellinhalt aus den verletzten Zellen nur kleine Teile aus, ohne daß Abrundung erfolgt. Vielleicht fehlt in diesen kurzen, eng prosenchymatischen Zellen ein die Geschwindigkeit der Protoplastenrundung beschleunigender Tonoplast (Tirold 1933). Daß diese Zellen auch in KCl unplasmolysierbar sind, würde sich so erklären.

Weiter konnte ich beobachten, daß der Zellinhalt bevorzugt und rascher aus den angeschnittenen Zellen solcher Blättchen austrat, die längere Zeit vorgewässert worden waren. Und an einem durch 24 Stunden gewässerten Stämmchen war in 3,0 mol Harnstoff nach 2 Min. vorübergehende Plasmolyse zu erzielen, die zum Teil konvex in den langen, prosenchymatischen Laminazellen unter Zweiteilung des Protoplasten erfolgte, wobei die Teilprotoplasten durch Plasmafäden in Verbindung bleiben. Binnen 15 Min. waren alle Zellen wieder deplasmolysiert. Die Zellen werden also durch entsprechend lange Wässerung wieder einigermaßen, auch in Lösungen von Nichtleitern, plasmolysierbar.

## 5. Besprechung der Versuchsergebnisse

Aus den gesamten Versuchsergebnissen läßt sich zur Beantwortung der Frage — Ursache der Schwerplasmolysierbarkeit beziehungsweise Nichtplasmolysierbarkeit der Laubmoose — folgendes beitragen.

Die Schwerplasmolysierbarkeit der Laubmoose ist hauptsächlich durch eine Schwerdurchlässigkeit der Zellwände für die Diosmotika bedingt. Das geht aus den unterschiedlichen Plasmolyseeintrittszeiten deutlich hervor. Dieselben sind im allgemeinen, bis auf die wenigen sehr gut plasmolysierbaren Arten wie *Plagiothecium denticulatum*, *Calliergon Richardsonii*, *Climacium dendroides*, ... in kleinemolekularen Plasmolyticis stets kürzer als in großmolekularen. An schwerplasmolysierbaren Moosen, wie zum Beispiel *Scleropodium purum*, kann dabei der Unterschied zwischen dem Plasmolyseeintritt in Traubenzucker und dem in Harnstoff über eine Stunde betragen.

Aus Versuchen an angeschnittenen Blättchen geht, analog den Befunden von Huber und Höfler (1930), Mender (1958), Biebl (1954), her-

vor, daß Außen-, Quer- und Längswände der Blattzellen bei den einzelnen Moosarten oft recht erhebliche Unterschiede im Permeabilitätsverhalten zeigen. Viele Moose, so die meisten *Mnia* und *Brya*, besitzen nur sehr dicht gebaute Außenwände. Bei manchen sind außerdem auch die Querwände sehr dicht gebaut (Beispiel: *Mnium cuspidatum*, *M. spinosum*), während die Längswände sehr gute Wegsamkeit zeigen. Es können aber auch alle Zellwände gleich dicht (*Scleropodium purum*) oder gleich weitmaschig (*Calliergon Richardsonii*) gebaut sein. Innerhalb einer artenreichen Gattung sind alle möglichen Bauarten zu finden, vielfach überwiegt aber ein Typus an Häufigkeit.

Viele Arten lassen auch, wie schon Mender (1958) für *Bryum capitulare* feststellen konnte, innerhalb ein und desselben, insbesondere älterer Blättchen, Unterschiede in der Membranbeschaffenheit beobachten. *Plagiothecium*-Arten zeigen meist weniger dicht gebaute Basis- als Spitzen- und Laminazellwände, *Brachythecium*-Arten eine bessere Wegsamkeit in den Spitzen als in den Basis- und Laminazellwänden. Die Durchlässigkeitseigenschaften gleichalter Moosblättchen sind also für die Art spezifisch.

Kressin (1955) hat gezeigt, daß die Zellwände älterer Blättchen der Diffusion großmolekularer Stoffe einen geringeren Widerstand entgegenzusetzen als die von jungen Blättchen eines Moosstämmchen. Solche Unterschiede im Diffusionsvermögen, die auf entwicklungsphysiologisch bedingte Veränderungen der Moosmembranen zurückzuführen sind, konnten am vorliegenden Material immer wieder beobachtet werden. (Vgl. insbesondere *P. neglectum* S. 3 und *E. Swartzii* S. 13.)

Mit diesen altersbedingten Unterschieden der Membran gehen entsprechende Unterschiede des Plasmas Hand in Hand. In den Zellen junger Blättchen zeigt das Plasma, insbesondere an den Querwänden, ein viel stärkeres Haftvermögen als in den Zellen alter Blätter. Diese bereits 1935 ebenfalls von Kressin an Moosblättchen gemachte Beobachtung stimmt damit gut mit der von Strugger (1934) an höheren Pflanzen festgestellten Tatsache überein, wonach in jüngeren noch wachsenden Zellen eine innigere Verbindung von Protoplast und Zellwand besteht, als dies in älteren, ausgewachsenen Zellen der Fall ist.

Protoplastmatische Differenzierungen sind nicht nur am Moospflänzchen sondern auch in ein und demselben Moosblättchen zu finden, wie dies auch auf Grund früherer Untersuchungen an Moosblättchen vor allem von Kressin (1935), Biebl (1935, 1940 a, b, 1948, 1949), Scheibmaier (1937), Mender (1958) und Abel (1956) zu erwarten war. So lassen die Blattbasiszellen der hier untersuchten Moosarten stets längere Rundungszeiten feststellen, scheinen also ein viskoseres Plasma zu besitzen als die Blattspitzenzellen. Wenn wir der Angabe folgen, daß die Basiszellen der Moosblättchen die jüngsten Teile, Rand- und Spitzenzellen die ältesten Teile darstellen, dann können diese plasmatischen Verschiedenheiten aus dem unterschiedlichen Entwicklungszustand der Zellen erklärt werden. Allgemein scheint jedoch für den Plasmolyseeintritt die Viskosität kaum eine Rolle zu spielen, gegenüber dem Zellwandwiderstand und der Adhäsion, die allenthalben an jungen Moosblättchen und an der Trockenheit

ausgesetztem Moosmaterial von Einfluß ist; wir kommen darauf noch zu sprechen.

In den Zellen der oberen Blatthälfte von *Rhacomitrium aciculare* sind es große, den ganzen Zellraum erfüllende Plastiden, die den normalen Verlauf der Plasmolyse hemmen. Dieser Faktor konnte ansonsten nur noch manchmal an einzelnen Blättchen von *Plagiothecium*-Stämmchen beobachtet werden, die sich bereits durch ihre dunkelgrüne Farbe und die vermehrte Chloroplastenzahl von den anderen Blättchen unterschieden. Abel (1956) stellte für solche, wahrscheinlich in einem bestimmten Stadium des Alterns sich befindlichen Blättchen, eine höhere Trockenresistenz fest als für die übrigen Stammbättchen. In sehr jungen Zellen ist, wie schon Strasburger (1901) richtig feststellte, vielfach ein mangelnder Zellsaft Raum Ursache des gehemmten Plasmolyseverlaufes, doch auch in alten Zellen, wie den schmalen, kurzen Zellen des oberen Blattdrittels von *Hypnum pallescens* (s. S. 16) kann dieser Faktor von Bedeutung sein.

Den Veränderungen der Membran und des Plasmas im Laufe der Entwicklung, den altersbedingten Membranunterschieden, sind die allerdings reversiblen Membranänderungen gegenüberzustellen, die durch Änderungen der Außenfaktoren, durch die Feucht-Trockenunterschiede bewirkt werden. So hat zunehmende Lufttrocknis, wie an entsprechendem Material von *Plagiothecium silbaticum*, *P. Roeseanum*, *P. succulentum*, *Mnium spinosum*, *Brachythecium rivulare*, *Eurhynchium striatum* zu beobachten ist, eine schwerere Plasmolysierbarkeit zur Folge —, Feuchtigkeit beziehungsweise Feuchtkultur das Gegenteil. Für diese schwere Plasmolysierbarkeit ist wohl eine Zunahme der Zellwanddicke verantwortlich zu machen, die selbst für den kleinstmolekularen Harnstoff noch soviel auszumachen scheint, daß die gleichzeitige Permeation desselben in die Vakuole keine Plasmaabhebung eintreten läßt. Biebl (1954) stellte ein ähnliches Verhalten in Formamid für die schwerplasmolysierbaren Blättchen von *Mnium punctatum* und *M. serratum* fest. Die zunehmende Membranunwegsamkeit scheint dabei in vielen Fällen mit einer verminderten Wasserpermeabilität und einer Zunahme der Viskosität der äußeren Plasmagrenzschichten Hand in Hand zu gehen. Die fast stets unter Zerstörung der äußeren Plasmasschichten vor sich gehende Plasmolyse der schwerstplasmolysierbaren Moosarten, *Brachythecium rutabulum*, *Eurhynchium speciosum* in den Alkalisalzen läßt darauf schließen.

Diese Plasmolysierbarkeit der in Nichtleitern unplasmolysierbaren Moose, sowie der allgemein raschere Plasmolyseverlauf normal plasmolysierender Moose in Alkalisalzlösungen, ist wohl nicht allein auf das kleine Molvolumen der Lösungsteilchen dieser Diosmotika zurückzuführen. Eine besondere Bedeutung dürfte hier den auf Membran und äußere Plasmagrenzschichten quellend wirkenden Eigenschaften der Elektrolyte beizumessen sein, indem dieselben die Membranpermeabilität erhöhen und die Adhäsion des Plasmas an die Membran herabsetzen.

Förster (1953) hat für *Rhiziclonium* gezeigt, daß der Stoffdurchtritt durch die Zellwände dieser Alge, außer von der Teilchengröße der Stoffe, auch vom Quellungszustand der Membran abhängt, und zwar wird die

Durchlässigkeit durch Quellung erhöht, durch Entquellung erniedrigt. Er stellt sich vor, daß stark entquellend wirkende oder Stoffe mit großer Teilchengröße in höheren Konzentrationen sich den Durchtritt durch die Membran infolge Entquellung derselben selbst blockieren.

Härtel (1940) stellte eine vom Quellungszustand der Membran abhängige Stoffdurchlässigkeit an schwerplasmolysierbaren Hymenophyllaceen fest. Er beobachtete, daß durch Luftvorbehandlung die Durchlässigkeitseigenschaften der Hymenophyllaceenmembran und die Wasserpermeabilität vermindert, die Viskosität der äußeren Plasmagrenzschichten erhöht wurde, während Vorbehandlung mit Wasser das Gegenteil bewirkt. Härtel führt diese Veränderungen auf Ladungsänderungen der Membran und des Plasmas im Sinne einer Änderung des Quellungszustandes der Zellwand und damit der Membranporen zurück.

Daß auch bei den Laubmoosen für die Stoffdurchlässigkeit der Membran, außer der Teilchengröße der Stoffe, der Quellungszustand der Zellwand eine Rolle spielen dürfte, dafür spricht, neben der Plasmolysierbarkeit der selbst schwerst plasmolysierbaren Moose in den quellend wirkenden Elektrolytlösungen, besonders die leichte Plasmolysierbarkeit von feucht kultiviertem beziehungsweise gut gewässertem Material. So konnte durch langes Wässern ja sogar das sonst unplasmolysierbare *Hypnum pallesens* plasmolysierbar gemacht werden. Die starke, allerdings langsame Quellfähigkeit beziehungsweise Entquellbarkeit der Zellwände der Laubmoose ist eine oft besprochene Tatsache. Pfeffer (1897), Steinbrinck (1899, 1900, 1910), Müller (1909), Prát und Minassian (1929) und Renner (1933), machen auf Grund ihrer Versuche über die Transpiration bei *Polytrichum commune* die Zellwand allein für die Schnelligkeit der Wasseraufnahme und des Wasserverlustes verantwortlich.

Diese an den Membranen einer Art zu beobachtenden Feucht- und Trockenunterschiede sind innerhalb einer Gattung zwischen den feuchten und trockenen Standorte bewohnender Arten wiederzufinden. So zeigt innerhalb einer Gattung die Art der feuchtesten Standorte unter normalen Bedingungen die beste Plasmolysierbarkeit, scheint demnach die weitmaschigsten Zellwände zu besitzen; z. B. *Mnium cinclidioides* innerhalb der Gattung *Mnium*, *Plagiothecium undulatum*, *P. denticulatum* innerhalb der Gattung *Plagiothecium* u. a. Ein Landmoos einer bestimmten Gattung kann aber durchaus besser plasmolysierbar sein — *Pteryginandrum filiforme* — als ein Wassermoos einer anderen Gattung — *Platyhypnidium rusciforme*. Allgemein ist jedoch zu beobachten, daß die Moose der feuchtesten Standorte, Sumpf, Wasser, Moor, die weitmaschigsten Zellwände aufweisen, so die verschiedenen Arten aus der Familie der Amblystagiaceen S. 11 —, die Moose trockener und trockenster Standorte die dichtest gebauten Zellwände — *Mnium spinosum*, *Scleropodium purum*. Die Bewohner feuchter oder trockener Standorte des Waldes — fast alle *Plagiotheciaceen*, die meisten *Mnia* und *Brya* — zeigen keine solche Einheitlichkeit in der Ausbildung der Zellwände. Hier offenbart sich die eingangs erwähnte Mannigfaltigkeit, wie dichte Außenwände, wegsamere Quer- und Seitenwände usw. Neben den Formen mit mittlerer Durchlässigkeit, *Plagiothecium neglectum*, *P. silvaticum*,

*P. platyphyllum*, *Bryum capillare*, finden sich hier einerseits Übergänge bis zu leichtester Plasmolysierbarkeit entsprechend den Zellwandeigenschaften der Hygromorphen, *Plagiothecium denticulatum* *Thuidium tamariscinum*, und andererseits Übergänge bis zu Schwerplasmolysierbarkeit entsprechend einem mehr xerophilen Bau, *Mnium cuspidatum*.

Die schon durch ihre Standortsansprüche als Hygro-, Meso- und Xerophyten gekennzeichneten Moose unterscheiden sich also nicht nur in der morphologischen Ausbildung der Zellwanddicke und des Blattzellnetzes, sondern jeweils auch durch entsprechend unterschiedliche Membraneigenschaften.

Abel (1956) stellte in seinen Untersuchungen über die Austrocknungsresistenz der Laubmoose fest, daß sich zwischen Trockenresistenz der Arten und ökologischem Anspruch enge Beziehungen herstellen lassen. Er findet allgemein für die Hygrophyten niedere, für die Xerophyten hohe primäre Trockenresistenzen und Vortrocknungsschwellen, für die Mesophyten eine niedere primäre aber hohe Vortrocknungsschwelle, womit diese Moose „einerseits Eigenschaften der Hygrophyten besitzen, andererseits sich dem Verhalten der Xerophyten nähern“. Die sowohl von mir als ihm untersuchten Arten lassen einen Vergleich der Trockenresistenz mit der Membranwegsamkeit zu. Es zeigt sich, daß die am wenigsten resistenten Arten innerhalb einer Gattung, *Plagiothecium denticulatum*, *P. undulatum*, *M. cinclidioides*, die hygrophytischen Amblystegiaceen, die weitmaschigsten Membranen beobachten lassen, die resistenten Arten, *Mnium spinosum*, *P. Roeseanum*, *Eurhynchium striatum*, *Rhacomitrium hypnoides*, unwegsamere Zellwände. Es scheint in diesen Fällen Membranwegsamkeit und Austrocknungsresistenz sich gleichsinnig zu verhalten.

Diese durch geänderte Außenfaktoren verursachten Änderungen der Membraneigenschaften könnten, im Sinne Biebls (1949) zur Unterscheidung einer ökologisch beziehungsweise konstitutionell bedingten Schwerplasmolysierbarkeit führen. Dazu ist aber zu sagen, daß die durch Trocken- und Feuchtigkeitsunterschiede verursachte schwerere beziehungsweise leichtere Plasmolysierbarkeit wohl ökologisch bedingt ist, im unterschiedlichen Verhalten der Arten und in der generellen Schwerplasmolysierbarkeit gewisser Formen jedoch ein ansehnlicher konstitutionell bedingter und für die Arten mehr oder minder spezifischer Rest cytologischer Eigenschaften bleibt.

### Zusammenfassung

Bei den Untersuchungen nach den für die Erscheinungen des Plasmolyseverzuges bei den Laubmoosen maßgeblichen Faktoren, von denen insbesondere fünf in Frage kamen, und zwar:

1. der Diffusionswiderstand der Zellwand für die plasmolytischen Reagenzien,
2. das Haftvermögen des Plasmas an der Zellwand,
3. der Permeationswiderstand des Plasmas gegen den Wasserdurchtritt,
4. der Widerstand des Plasmas gegen Formveränderungen,



5. ein mangelnder Zellsaft Raum, beziehungsweise die Raumerfüllung durch Plasma und Plastiden, konnte folgendes beobachtet werden.

Die häufigste Ursache für die Schwerplasmolysierbarkeit der Laubmoose ist eine Schwerdurchlässigkeit der Zellwände für die *Diosmotika*. Dieser Zellwandwiderstand überdeckt fast stets alle anderen für einen verzögerten Plasmolyseverlauf noch maßgeblichen Faktoren.

An jungen Blättchen ist häufig, wie schon Strasburger (1901) feststellen konnte, ein mangelnder Zellsaft Raum unmittelbare Ursache des gehemmten Plasmolyseverlaufes. Aus dem gleichen Grund kann auch in älteren Blättchen (z. B. in den kurzen Zellen des oberen Blattdrittels von *Hypnum pallescens*) Plasmolyseverzug zustande kommen.

Gegebenenfalls tritt wohl auch die Adhäsion, besonders in jungen Blättchen (z. B. der Zuwachssprosse von *Plagiothecium neglectum*) und vor allem an der Trockenheit ausgesetztem Moosmaterial stärker in Erscheinung.

Bei *Rhacomitrium aciculare* und vereinzelt, in bestimmtem Alter befindlichen Blättchen von *Plagiothecium*-Arten sind es große, die ganze Zelle erfüllende Plastiden, die den Plasmolyseverlauf verzögern.

Im Laufe der Entwicklung ist eine Änderung in den Durchlässigkeitseigenschaften der Moosmembranen festzustellen. So sind die Zellwände älterer Blättchen besser wegsam als die der mittleren und jungen Blättchen.

Den altersbedingten Membranunterschieden stehen die, allerdings reversiblen, durch Änderungen der Außenfaktoren, also ökologisch bedingten Membranänderungen gegenüber. So bewirkt Lufttrockenheit eine schwere Plasmolysierbarkeit. Als Ursache kommen in Betracht: Eine Zunahme der Zellwanddicke, eine Abnahme der Wasserpermeabilität und eine Erhöhung der Viskosität der äußeren Plasmagrenzschichten. — Feuchtkultur hat gegenteilige Veränderungen zur Folge.

Die schwerere Plasmolysierbarkeit trockenen Moosmaterials, beziehungsweise die leichtere von feucht gehaltenem (vgl. die Untersuchungen an den verschiedenen *Plagiothecium*-Arten) sowie die Plasmolysierbarkeit von in Nichtleitern unplasmolysierbaren Moosen in quellend wirkenden Alkalisalzlösungen, läßt darauf schließen, daß bei den Laubmoosen für die Durchlässigkeit der Membran außer der Teilchengröße der Stoffe auch der Quellungszustand der Zellwand eine große Rolle spielt.

Mit den alters- und ökologisch bedingten Änderungen der Membraneigenschaften gehen Änderungen des Plasmas Hand in Hand. So sind in jüngeren Blättchen stets höhere Rundungszeiten der Protoplasten festzustellen als in älteren Blättchen. Ebenso zeigen die Blättchen lufttrockenen Moosmaterials höhere Rundungszeiten als Blättchen feucht gehaltener Moose.

Viele Moosarten lassen auch innerhalb derselben, insbesondere älterer Blättchen Unterschiede in der Membranbeschaffenheit beobachten, wie an den Blattspitzen- und -basiszellen bei *Plagiothecium*- und *Brachythecium*-Arten zu sehen ist.

Sehr häufig sind auch plasmatische Unterschiede zwischen Spitzen- und

Basiszellen eines Blättchens festzustellen, wobei allgemein die letzteren höhere Rundungszeiten aufweisen.

Die schon durch die Standortsansprüche als Hygro-, Meso- und Xerophyten gekennzeichneten Moose unterscheiden sich nicht nur in der morphologischen Ausbildung der Zellwanddicke und des Blattzellnetzes, sondern jeweils auch durch entsprechend unterschiedliche Membraneigenschaften. Man darf annehmen, daß die Hygrophyten im allgemeinen durch weitmächtige, die Xerophyten durch dichte Zellwände gekennzeichnet sind, während die Mesophyten alle Übergänge in der Beschaffenheit ihrer Zellwände zeigen. Die engen Beziehungen zwischen Membraneigenschaften und Standortbedingungen sind weiters vielfach im gleichsinnigen Verhalten von Membranwegsamkeit und Austrocknungsresistenz (vgl. Abel 1956) zu erkennen.

#### Literatur

- Abel, W., 1956: Die Austrocknungsresistenz der Laubmoose. S. B. Wien Akad. Wiss. math.-nat. Kl., Abt. I, 165, 619.
- Biebl, R., 1953: Die Wirkung der  $\alpha$ -Strahlen auf die Zellen des Laubmooses *Bryum capillare*. S. B. Wien. Akad. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. II a, 142, 8. Heft, 381.
- 1957: Ökologische und zellphysiologische Studien an Rotalgen der englischen Südküste. Beih. Bot. Zbl. I, 57.
- 1959 a: Protoplasmatische Ökologie der Meeresalgen. Ber. dtsh. bot. Ges. 57, 78.
- 1940: Einige zellphysiologische Beobachtungen an *Hookeria lucens*. Österr. bot. Z., 89, 500.
- 1949: Vergleichend chemische Resistenzstudien an pflanzlichen Plasmen. Protoplasma 39, 1.
- 1954: Lichtgenuß und Strahlenempfindlichkeit einiger Schattenmoose. Österr. bot. Z., 101, 502.
- 1954: Zellwandpermeabilität einiger Moose. Protoplasma 44, 73.
- Boas, F., 1914: Zur Physiologie einiger Moose. Hedwigia 54, 14.
- Brand, F., 1905: Über das osmotische Verhalten der Cyanophyceenzelle. Ber. dtsh. Ges. 21, 502.
- Brilliant, B., 1927: Les formes de la plasmolyse produit par des solutions concentrées de sucres et de sels dans les cellules de *Mnium* et de *Catharinea*. C. r. Acad. Sci. Russ. 155.
- Brauner, L., 1932: Permeabilität der Zellwand. Ruhlands Handbuch d. Pflanzenphysiologie. Bd. II, 337.
- Buhmann, A., 1955: Kritische Untersuchungen über vergleichende plasmolytische und kyroskopische Bestimmungen des osmotischen Wertes bei Pflanzen. Protoplasma 23, 579.
- Casari, K., 1953: Über den Plasmolytikumwechsel-Effekt. Protoplasma 42, 427.
- Derry, El. B., 1929: Plasmolyseform- und Plasmolysezeitstudien. Protoplasma 8, 1.
- Dixon, H. N., 1954: The student's handbook of British mosses; London 1954.
- Etz, K. H., 1959: Über die Wirkung des Austrocknens auf den Inhalt lebender Pflanzenzellen. Protoplasma 33, 4.
- Förster, K., 1953: Quellung und Permeabilität der Zellwand von *Rhizochlonium*. Planta 20, 476.
- Frenzel, P., 1929: Über die Porengröße einiger pflanzlicher Zellmembranen. Planta 8, 642.
- Gams, H., 1957: Kleine Kryptogamenflora von Mitteleuropa. Bd. 4, 4. Aufl., Stuttgart.

- Gardiner, W., 1884: On the continuity of the protoplasm, through the walls of vegetable cells. Arb. Bot. Inst. Würzburg, Bd. 3.
- Germ, H., 1952: Untersuchungen über systrophische Inhaltsverlagerungen in Pflanzenzellen nach Plasmolyse. III. Protoplasma 18, 260.
- Goebel, J. K., 1903: Über die Durchlässigkeit der Kutikula. Diss. Leipzig.
- 1950: Organographie der Pflanzen und ihre Bedeutung. 5. Aufl., Bd. 2. Jena.
- Gjokic, G., 1895: Über die chemische Beschaffenheit der Zellhäute bei den Moosen. Österr. bot. Z. 45, 350.
- Grebe, C., 1919: Studien zur Biologie und Geographie der Laubmoose. Hedwigia 59, 1.
- Haberlandt, G., 1886: Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Laubmoose. Jb. wiss. Bot. 17, 358.
- Härtel, O., 1940: Physiologische Studien an Hymenophyllaceen. I. Zellphysiologische Untersuchungen. Protoplasma 34.
- 1940: Physiologische Studien an Hymenophyllaceen. II. Wasserhaushalt und Resistenz. Protoplasma 34, 489.
- Haybach, G., 1956: Zur Ökologie und Soziologie einiger Moose und Moosgesellschaften des nordwestlichen Wienerwaldes. Verh. dtsch. zool. bot. Ges. Wien 96, 152.
- Herzog, Th., 1926: Geographie der Moose. Fischer: Jena.
- und K. Höfler, 1944: Kalkmoosgesellschaften um Golling. Hedwigia 82, 1.
- Höfler, K., 1950 a: Das Plasmolyseverhalten der Rotalgen. Z. Bot. 25, 270.
- 1950 b: Über Eintritts- und Rücktrittsgeschwindigkeit der Plasmolyse und eine Methode zur Bestimmung der Wasserpermeabilität des Protoplasten. Jb. wiss. Bot. 73, 300.
- 1951 a: Das Permeabilitätsproblem und seine anatomischen Grundlagen. Ber. dtsch. bot. Ges. 49, 79.
- 1951 b: Die Durchlässigkeit des Protoplasmas für gelöste Stoffe und das Wasser. Forsch. u. Fshr. 48.
- 1951 c: Hyponietod und osmotische Resistenz einiger Rotalgen. Österr. bot. Z. 80, 52.
- 1951 d: Plasmolyseverlauf und Wasserpermeabilität. Protoplasma 12, 142.
- 1952 a: Plasmolyseformen bei *Chaetomorpha* und *Cladophora*. Protoplasma 16, 489.
- 1952: Vergleichende Protoplasmatik. Ber. dtsch. bot. Ges. 50, 53.
- 1952 c: Zur Tonoplastenfrage. Protoplasma 15, 462.
- 1945 a: Über Trockenhärtung und Härtungsgrenze des Protoplasmas einiger Lebermoose. Anz. Wien. Akad. Wiss., math.-nat. Kl. Nr. 3.
- 1949: Über Wasser- und Harnstoffpermeabilität des Protoplasmas. Phytion 1, 105.
- 1950: Über Trockenhärtung des Protoplasmas. Ber. dtsch. bot. Ges. 63, 3.
- 1952 b: Zur Kenntnis der Plasmahautschichten. Ber. dtsch. bot. Ges. 65, 15.
- H. Migsch und W. Rottenburg, 1941: Über die Austrocknungsresistenz landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. Forschungsdienst, Bd. 12, Heft 1.
- Hofmeister, L., 1956: Über die Plasmagrenzschichten im Pollenkorn. Protoplasma 46, 368.
- Holle, H., 1915: Untersuchungen über Welken, Vertrocknen und Wiederstraffwerden. Flora 108, 73.
- Huber, B., und K. Höfler, 1950: Die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Jb. wiss. Bot. 73, 351.
- und H. Schmidt, 1935: Plasmolyse und Permeabilität. Protoplasma 20, 205.
- Iljin, W., 1930: Die Ursachen der Resistenz von Pflanzen gegen Austrocknen. Protoplasma 10, 379.

- irmscher, E., 1912: Über die Resistenz der Laubmoose gegen Austrocknung und Kälte. Jb. wiss. Bot. 50, 59.
- Jost, 1929: Einige physikalische Eigenschaften des Protoplasmas von *Valonia* und *Chara*. Protoplasma 7, 1.
- Juratzka, J., 1882: Die Laubmoosflora von Österreich-Ungarn. Wien.
- Klebs, G., 1887: Beiträge zur Physiologie der Pflanzenzelle. Unters. bot. Inst. Tübingen 2, 489.
- Kohl, 1897: Die Protoplasmaverbindungen der Spaltöffnungsschließzellen und der Moosblattzellen. Bot. Zbl. 72, 257.
- Koppe, F., 1931: Frostschäden bei Moosen. Ber. dtsh. bot. Ges. 49, 351.
- Krebs, I., 1951: Beiträge zur Kenntnis des Desmidiaceenprotoplasten I. Osmotische Werte; II. Plastidenkonsistenz. S. B. Wien. Akad. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. I, 160, 579.
- Kressin, G., 1955: Beiträge zur vergleichenden Protoplasmatik der Mooszelle. Diss. Greifswald.
- Küster, E., 1926: Beiträge zur Kenntnis der Plasmolyse. Protoplasma 1, 73.  
— 1929: Pathologie der Pflanzenzelle I. Berlin.  
— 1956: Die Pflanzenzelle, 5. Aufl. Jena: Fischer.
- Lackner, L., 1939: Über die Jahresperiodizität in der Entwicklung der Laubmoose. Planta 29, 534.
- Lange, O. L., 1955: Untersuchungen über die Hitzeresistenz der Moose in Beziehung zu ihrer Verbreitung I. Flora 142, 582.
- Laué, E., 1937: Untersuchungen an Pflanzenzellen im Dampfraum. Flora 32, 193.
- Lepeschkin, W., 1909 b: Über die Permeabilitätsbestimmung der Plasmamembran für gelöste Stoffe. Ber. dtsh. bot. Ges. 27, 129.
- Limpriht, K. G., 1890—1904: Die Laubmoose Deutschlands, Österreichs und der Schweiz unter Berücksichtigung der übrigen Länder Europas und Sibiriens.
- Lorch, W., 1894: Beiträge zur Anatomie und Biologie der Laubmoose. Flora 78, 424.  
— 1925: Die Laubmoose. Berlin.
- Lorentz, P. G., 1860: Beiträge zur Biologie und Geographie der Laubmoose. München.
- Mägdelfrau, K., 1955: Untersuchungen über die Wasserversorgung der Gametophyten und Sporophyten der Laubmoose. Z. Bot. 29, 537.  
— 1957: Der Wasserhaushalt der Moose. Ann. Bryol. 10, 141.
- Malta, N., 1921: Versuche über die Widerstandsfähigkeit der Moose gegen Austrocknung. Latvijas Augusts' Raks. Acta Universal. 1.
- Marklund, G., 1956: Vergleichende Permeabilitätsstudien an pflanzlichen Protoplasten. Acta bot. Fenn. 18.
- Meindl, T., 1934: Weitere Beiträge zur protoplasmatischen Anatomie des *Helodea*-Blattes. Protoplasma 21, 362.
- Mender, G., 1958: Protoplasmatische Anatomie des Laubmooses *Bryum capillare*. Protoplasma 30, 376.
- Moder, A., 1932: Beiträge zur protoplasmatischen Anatomie des *Helodea*-Blattes. Protoplasma 16, 1.
- Mönkemeyer, W., 1927: Die Laubmoose Europas. Rabenhorsts Kryptog. — Flora, Bd. IV, Leipzig 1927.
- Müller, K., 1909: Untersuchungen über die Wasseraufnahme durch Moose und verschiedene andere Pflanzen und Pflanzenteile. Jb. wiss. Bot. 46, 587.
- Naegeli, C., 1855: Pflanzenphysiologische Untersuchungen, Zürich.
- Ochsner, F., 1955: Das ozeanische Element in der schweizerischen Moosflora. Ein Beitrag zu seiner Aufgliederung. Mitt. Thüring. bot. Ges., Bd. 1, H. 2—3, 151.

- Pernauer, S., 1958: Das Verhalten einiger Cyanophyceen bei osmotischen Impulsen. *Protoplasma* 49, 262.
- Poelt, J., 1954: Moosgesellschaften im Alpenvorland I. und II. S. B. Wien. Akad. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. I, 163, Bd. 3., 6. u. 7.
- Prát, S., und B. Minassian, 1929: Über die Stoffaufnahme und Wasserabgabe bei Moosen. *Protoplasma* 5, 161.
- Renner, O., 1932: Zur Kenntnis des Wasserhaushaltes javanischer Kleinepiphyten. *Planta* 18, 215.
- Reuter, L., 1955: Protoplasmatische Pflanzenanatomie. *Protoplasmatologia* IX, 2.
- Rippel, A., 1918: Semipermeable Zellmembranen bei Pflanzen. *Ber. deutsch. bot. Ges.* 36, 202.
- Rouschal, E., 1957: Eine physiologische Studie an *Ceterach officinarum*. *Flora* 152, 505.
- Scheibmaier, G., 1958: Hitzeresistenzstudien an Mooszellen. *Protoplasma* 29, 394.
- Schindler, H., und W. Rücker, 1956: Resistenz und Nekrose von Pflanzenzellen nach Einwirkung des Insektizids Systox. *Protoplasma* 46, 620.
- Schmidt, H., 1936: Plasmolyse und Permeabilität. *Jb. wiss. Bot.* 86, 470.
- 1939: Plasmazustand und Wasserhaushalt bei *Lamium maculatum*. *Protoplasma* 33, 25.
- K. Diwald und O. Stocker, 1940: Plasmatische Untersuchungen an dürr empfindlichen und dürreresistenten Sorten landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. *Planta* 31, 558.
- Steinbrinck, C., 1910: Weiteres über den Kohäsionsmechanismus von Laubmoosblättern. *Ber. deutsch. bot. Ges.* 28, 19.
- Strasburger, E., 1901: Über Plasmaverbindungen pflanzlicher Zellen. *Jb. wiss. Bot.* 36, 493.
- Strugger, S., 1934: Beiträge zur Physiologie des Wachstums. I. Zur protoplasmaphysiologischen Kausalanalyse des Streckungswachstums. *Jb. wiss. Bot.* 79, 406.
- 1949: Praktikum der Zell- und Gewebephysiologie der Pflanze. 2. Aufl.
- Scües, J., 1913: Über einige charakteristische Wirkungen des Al-Ions auf das Protoplasma. *Jb. wiss. Bot.* 52, 272.
- Tirol, M., 1933: Untersuchungen über das Plasmolyseverhalten bei *Vaucheria*. *Protoplasma* 18, 345.
- Url, W., 1956: Über Schwermetall-, zumal Kupferresistenz einiger Moose. *Protoplasma* 46, 768.
- Walter, H., 1923: Protoplasma- und Membranquellung bei Plasmolyse. *Jb. wiss. Bot.* 62, 145.
- Weber, F.: Das Fadenziehen und die Viskosität des Protoplasmas. *Österr. bot. Z.* 70, 172.
- 1924 a: Plasmolyseform und Plasmaviskosität. *Österr. bot. Z.* 73, 261.
- 1925: Physiologische Ungleichheit bei morphologischer Gleichheit. *Österr. bot. Z.* 74, 256.
- 1929 a: Plasmolysezeitmethode. *Protoplasma* 5, 622.
- 1929 c: Plasmolysort. *Protoplasma* 7, 585.
- Weis, A., 1925: Beiträge zur Kenntnis der Plasmahaut. *Planta* 1, 145.
- Weixl-Hofmann, H., 1930: Beiträge zur Kenntnis der Salzdurchlässigkeit des Protoplasten. *Protoplasma* 11, 210.
- Zacherl, H., 1956: Physiologische und ökologische Untersuchungen über die innere Wasserleitung bei Laubmoosen. *Z. Bot.* 44, 409.

## Über die Elaioplasten der Rotalge *Laurencia obtusa*

Von

**Themistokles Diannelidis und Karl Höfler**

Aus dem Botanischen Institut der Universität Thessalonike

Mit 11 Textabbildungen

(Eingegangen am 19. Juni 1958)

### I.

Am 12. April 1958 unternahm Höfler eine Algenexkursion nach den Grotten an der Nordwestküste der Kykladeninsel Mykonos. An der senkrechten, nordgelegenen Wandung am Höhleneingang fand sich auf Gneisgranit eine reiche Algenvegetation, die sich zumeist aus kleinen Steinhaftern zusammensetzte. Unter ihnen war eine zierliche, ein bis wenig cm große Rotalge, die das Material zu der folgenden Untersuchung lieferte. Die Alge wurde, mit anderen, in großen Gläsern mit Standortswasser eingebracht, sorgsam gepflegt, vor Besonnung geschützt, sodann auf der Fahrt mit Dampfer und Bahn kühl gestellt und am 18. bis 25. April im Botanischen Laboratorium der Universität Thessalonike untersucht. Hier wurde die Alge von Diannelidis als eine kleine Form (Abb. 1) der sehr variablen Art *Laurencia obtusa* (J. Ag.)<sup>1</sup> identifiziert.

Bei der Durchsicht des aus Mykonos eingebrachten Materiales fiel die Rotalge durch ihre höchst eigenartigen Inhaltskörperchen auf. In jeder Zelle der Rindenschicht des Thallus liegt ein ovales, stark lichtbrechendes Gebilde von der aus Abb. 2, 3. und 6 ersichtlichen Form. Überall liegt das Körperchen mit der Breitfläche der basalen Seite der rundlich-polygonalen Zellen an. Es ist meist streng ellipsoidisch mit glatter, praller

<sup>1</sup> Vgl. z. B. Funk (1927, S. 447; 1955, S. 141). Er unterscheidet eine grüne (*L. viridis*) und eine rote Form. Um Mykonos findet sich *L. obtusa* häufig epiphytisch in den lichtexponierten *Cystosira*-Wiesen. Die Pflanze ist schon bei Schiffner und Schussnig (in Reehinger 1943, S. 9) erwähnt („Mykonos: Bucht Panormos, auf *Cystosira Reehingeri*, ausgeworfen — R. Schiffn., Alg. mar. 1821“) und wird dort zur var. *laxa* Ktze., Alg. 852, gestellt. Vgl. Diannelidis (1950, S. 78). Unsere zarte, 1 bis 2 cm hohe, wenig verzweigte Höhlenform ist davon deutlich verschieden und wäre etwa als *fo. spelaia* zu bezeichnen.



Oberfläche, mitunter nach der Zellwand hin leicht bohnenförmig abgeflacht. Lichtbrechung und Glanz machen die Gebilde höchst auffällig, bei Meeresalgen waren uns beiden ähnliche Inhaltskörper nicht begegnet; sie erinnern im Aussehen einigermaßen an gewisse Ölkörperchen der Lebermoose. Ihre Größe ist in erwachsenen Zellen recht einheitlich und beträgt 11 bis  $12\mu$  in der Länge, um  $8\mu$  im Querdurchmesser. Einzelne Körner messen bis  $14 \times 9\frac{1}{2}\mu$ .

Nur die Zellen der Außenrinde, die bei unserer Alge fast epidermisähnlich differenziert ist, enthalten die Körperchen. Die längsgestreckten Parenchymzellen des großzelligen Markgewebes im Thallusinneren sind von ihnen frei, nur ausnahmsweise wurden einmal auch in Zellen der zweitäußersten Lage einige Körperchen beobachtet. Die Verteilung wird zumal im Längsschnitt und Querschnitt der Thallusglieder deutlich (Abb. 4, 5). Die Zellen der Rindenschicht führen die eiförmigen Körperchen (wir haben sie in unseren Protokollen kurz als „ova“ bezeichnet) bis an den eingesenkt vertieften Scheitel der Ästchen hin und zumal senkrecht zur Achse geführte Flächenschnitte aus der Region des Scheitels lassen erkennen, daß die Inhaltskörperchen hier in den zu Längsreihen angeordneten Rindenzellen bis in die jüngsten Stadien vorhanden sind. Sie sind dort naturgemäß kleiner, aber relativ bereits größer als im erwachsenen Zustand, indem sie einen wesentlich größeren Teil des Zellenvolumens einnehmen. Ob sie bei den letzten Teilungen der Rindenzellen sich auch durch Teilung vermehren, bleibt an lebhafter wachsendem Material, als es uns zur Verfügung stand, zu untersuchen. Unsere bisherigen Eindrücke wären mit der Annahme, daß sie sich teilen, vereinbar, da wir die Körperchen mehrfach zu zweit in den Zellen des jungen, in Teilung begriffenen Gewebes liegen sahen.

Daß die Körperchen im Plasma, nicht im Zellsaft liegen, ist beim Nekroseverlauf, auf den bald näher einzugehen sein wird, leicht und eindeutig zu erkennen. Für ihre Organellen-Natur spricht wohl auch ihre so auffällige polare Lage in den Zellen. Als Ausnahme erscheinen hier nur die sternförmig angeordneten Zellgruppen (Abb. 5), die sich an jedem Thallusglied in der Rindenlage in geringer Zahl aber regelmäßig wiederfinden. Hier liegen die eiförmigen Körperchen überall außen im breiteren Teil der sektorial angeordneten Zellen, freilich nicht so streng der Außenwand anliegend wie in den übrigen Rindenzellen.

Die Literatureinsicht ergab, daß die auffälligen Inhaltskörperchen, die in der Gattung *Laurencia* nur der Art *obtusa* zukommen, wie zu erwarten, schon wiederholt die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich gezogen haben.

Zuerst hat sie Berthold (1882, S. 708) beobachtet. Er erwähnt sie unter den „Vorrichtungen zum Schutz gegen hohe Lichtintensitäten im Plasma der einzelnen Zellen“. Er sagt im Anschluß an die Beschreibung der irisierenden Platten anderer



Abb. 1. *Laurencia obtusa*  
fo. spelai 2 : 1.

Rot- und Braunalgen: „So findet sich im Zellsaft der Oberflächenzellen der Thallome von *Laurencia obtusa* I. Ag. constant je eine stark lichtbrechende homogene Masse von sehr charakteristischer Form. Dieselbe erscheint von der Fläche kreisförmig, von der Seite nierenförmig, mit einem kurzen zapfenförmigen Vorsprung in der Mitte der concaven Fläche. Die Flächenansicht der letzteren zeigt ausser diesem Vorsprung in der Mitte noch 3 bis 5 voneinander durch Vertiefungen getrennte Protuberanzen der peripherischen Masse, während die entgegengesetzte, gewölbte Fläche glatt ist. ... Bemerkenswert für alle diese Bildungen, deren Zahl bei näherer Berück-

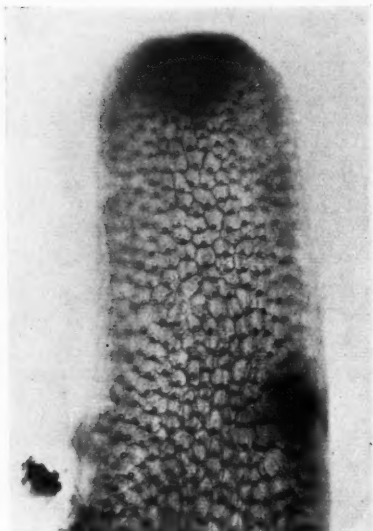


Abb. 2.

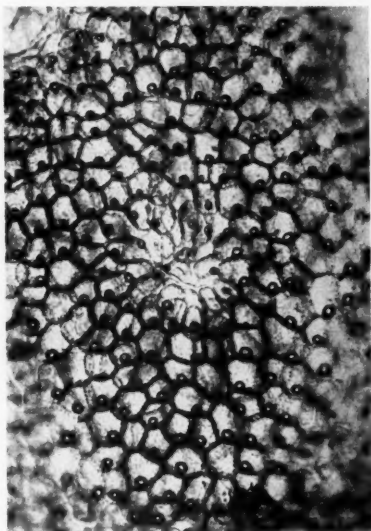


Abb. 3.

Abb. 2 und 3. Thallusglied, in jeder Zelle ein basal gelagerter Elaioplast.

Abb. 3 stärker vergrößert.

sichtigung sich wohl noch vermehren dürfte, ist, dass sie auffallend constant vorkommen und schon sehr frühzeitig in den noch jugendlichen Zellen in der Nähe der Scheitel angelegt werden, ein Umstand, der für eine wesentliche Function derselben im Leben der betreffenden Zellen spricht.“

Als nächster hat W a k k e r (1888, S. 488) ein Schüler von d e V r i e s, die Inhaltskörperchen von *Laurencia obtusa* und *Plocamium coccineum* untersucht und sie — mit Vorbehalt auf Grund ihres Verhaltens gegen absoluten Alkohol, verdünnte KOH und konz.  $H_2SO_4$  — den Elaioplasten zugezählt. „Ich denke mir sie gebaut wie ein Schwamm mit äusserst glatter Oberfläche, welcher aus protoplasmatischer Substanz besteht und in dessen Maschen sich das Oel vorfindet, welches durch wasserentziehende Mittel ausgetrieben wird.“

Ausführlich hat sich weiter mit den Inhaltskörpern von *Laurencia* Hansen (1892, S. 283) beschäftigt, dessen Darstellung aber mehrere leicht ersichtliche Irrtümer enthält, die z. T. im Schrifttum fortgewirkt haben. „Die oberflächliche Zellschicht besteht aus kleineren Zellen mit dickeren Wänden. Kleine Chromatophoren

liegen den Wänden an. Der Zellsaft ist zuweilen noch durch einen gelben Farbstoff gefärbt, der beim Absterben der Algen leicht in das Wasser diffundiert. In den Zellen der Oberfläche liegen Gruppen kleiner Tropfen (Fig. 14 a, b). Die übrigen Zellen enthalten einen relativ großen, stark lichtbrechenden Körper von merkwürdiger Gestalt. Am besten läßt er sich mit einer Kirsche vergleichen (Fig. 14 c, d), da sich bei kugeligter Gestalt an der einen Seite eine Vertiefung befindet. Sehr auffallend ist seine einseitige Lage in der Zelle. Immer liegen die Körperchen der

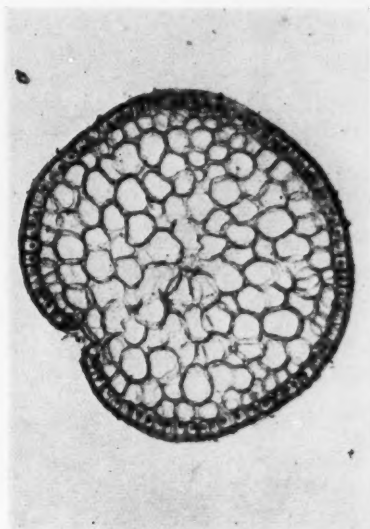
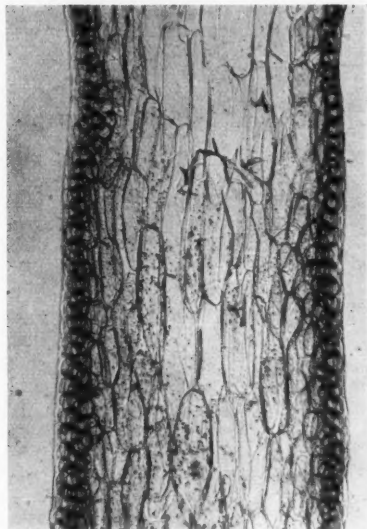


Abb. 4.

Abb. 5.

Abb. 4 und 5. Thallusglied, längs und quer.

einen Zellwand näher. Sie liegen etwas schief, sodass es nicht gelingt, an einer Art von Schnitten über ihre Form ins Klare zu kommen. Durch Vergleich von Quer- und Flächenschnitten aber läßt sich dieselbe feststellen. Der eigenthümliche Eindruck schien mir mit einem Stiel in Verbindung zu stehen, und mit Seibert Immers. 9 ließ sich auch feststellen, daß ein stielförmiger Protoplasmafaden die Kugel an den Wandbelag anheftet. Zu gleicher Zeit beobachtet man aber dann, dass auch von der Oberfläche nach allen Richtungen zarte Protoplasmafäden ausstrahlen, welche nach anderen Wandstellen der Zelle verlaufen, so daß die Kugel in ihrer Lage verharret (e). Das ganze Gebilde ist aufzufassen als ein Protoplasmasack, als eine an den zarten Fäden aufgehängte Vacuole, in welcher eine Substanz anderer Art aufgespeichert ist.“ ... „Man kann leicht durch Beobachtung der Haare von *Laurencia* darüber Rechenschaft geben, wie diese sonderbar in der Zelle befestigte Blase zustande kommen muss. Der Inhalt wird schon in jungen Haarzellen (g) in einer Vacuole im Protoplasma abgeschieden. Indem die Zellen wachsen und das Protoplasmanetz zu immer feineren Fäden ausgezogen wird, erscheint die Blase endlich in ihrer charakteristischen Aufhängung in den Zellen. Ich zweifle nicht daran, dass die Einwanderung der Substanz in die Vacuole durch die Proto-

plasmafäden vor sich geht. Die Kugeln, d. h. der Inhalt der Vakuole, färben sich mit Osmiumsäure schwach braun, mit Jod braun.“

Golenkin (1895) hat Hansens fehlerhaften Schluß, daß die mit stark lichtbrechender Substanz erfüllten Vakuolen eine Art Glykogen enthalten, richtiggestellt. Er führt die erste eingehendere mikrochemische Untersuchung durch und sagt, daß sich die Körperchen zwar entwickeln wie eine Vakuole; aber der Inhalt dieser Vakuolen hat mit Glykogen gar nichts zu tun und zeigt fast alle charakteristischen Reaktionen, die von Zimmermann und Raciborski für die

Elaioplasten von Kormophyten angegeben werden. Beim Zerdrücken und bei Behandlung mit gesättigter Kalilauge sowie mit Chloralhydrat tritt der Inhalt der Körperchen in Form klarer Tropfen aus, die sich in Chloralhydrat binnen einiger Stunden vollständig auflösen. Essigsäure löst die Körperchen leicht, läßt aber bei *Laurencia* einen unlöslichen Rückstand, der bei *Plocamium* und *Sphaerococcus* fehlt. Die Fettnatur des Inhaltes der Körperchen wird auch durch die schmutzige rote Färbung mit Alkannin und die Gelbfärbung mit in Seewasser gelöstem Nitrotoluidin bestätigt. Golenkins Auffassung von der Elaioplastennatur der *Laurencia*-Körperchen ist im Schrifttum im allgemeinen nicht übernommen worden.

Hingegen vergleicht Chade faud (1935) die irisierenden Körperchen der Meeresalgen mit den Elaioplasten der Lebermoose.

In neuerer Zeit hat sich P. Dangeard (1941) ausführlich mit den irisierenden Zellschlüssen der Meeres-

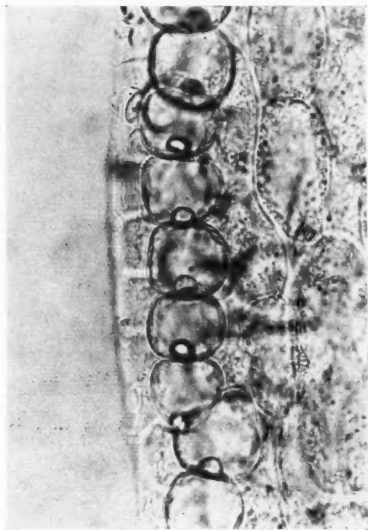


Abb. 6. Die Elaioplasten liegen nur in den Rindenzellen.

algen befaßt. Er sagt (S. 58) über *Laurencia obtusa* (Huds.) Lamour: „Cette espèce portait d'assez nombreux *Ricardia*; elle était dépourvue d'iridescence, mais toutes les cellules superficielles des branches et des rameaux renfermaient une vacuole réfringente spéciale (Fig. i, Pl. III). L'inclusion réfringente se trouve toujours accolée à la paroi cellulaire; elle a une forme globuleuse et montre d'un côté une sorte de hile ou d'ombilic; l'apparence est celle d'un iodoque et d'autre part toutes les cellules sans exception renferment un de ces globules et un seul même les cellules allongées et incolores des poils. Les inclusions ne se colorent ni par l'eau iodo-iodurée, ni par le bichromate de K, mais elles réduisent fortement l'acide osmique.“

J. und G. Feldmann (1950) heben hervor, daß die Einschlusskörperchen von *Laurencia obtusa*, die sie als „corps en cerise“ bezeichnen, nur in der äußeren Rindenschicht des Thallus und in allen Zellen der Trichoblasten auftreten. Sie sitzen auf plasmatischen Stielchen, die in den Trichoblasten an Länge etwa den dreifachen, in den Rindenzellen den einfachen Durchmesser der Körperchen erreichen und im Wandplasma verankert sind. In den jungen Trichoblasten wird die Entstehung der Kirschkörperchen verfolgt. Die intravakuolären Pseudopodien

höhlen sich zu einer Spezialvakuole aus, die sich mit einer stark lichtbrechenden Substanz füllt. Bei Schädigung schwellen die Kirschkörperchen an und ihr Inhalt wird körnig. „L'enveloppe cytoplasmique éclate ensuite et laisse échapper une matière semi-fluide finement granuleuse qui se répartit dans la vacuole, tandis qu'à l'intérieur de l'enveloppe apparaissent de fines gouttelettes réfringentes qui fusionnent progressivement en gouttelettes plus grosses pour former finalement une grosse gouttelette sensiblement de même taille que le corps en cerise primitif et qui, non miscible au suc vacuolaire, persiste après la mort de la cellule.“ Im Moment des Todes erfolgt eine Trennung des vordem homogenen Inhalts in eine feingranulöse Phase, die wasserlöslich ist und sich allmählich im Zellsaft löst, und eine mit Wasser nicht mischbare, anscheinend lipoiden Komponente, die Osmiumsäure reduziert und sich mit Sudan III und Brillantblau (Bleu B. Z. L.) anfärbt. Die granulöse Substanz ist auch löslich in Alkohol, unlöslich in Äther und gibt keine Reaktionen auf Pektinschleim, Tannoide oder Phenol. Die Kirschkörperchen färben sich aber mit Schiff'schem Reagens, das auf die lebende Zelle einwirkt, sofort stark violett, was auf die Gegenwart einer Verbindung mit Aldehydfunktion hinweist.

Funk (1955, Taf. XXVI, 10) gibt ein vorzügliches Photo der Rindenzellen von *Laurencia obtusa*, worin so wie bei unserem Material die Einschlusskörper ohne Befestigungsstielchen der basalen Zellwand anliegen. Er bezeichnet sie in der Figurenerklärung als „Sekretkörperchen“, ohne indes Belege für diese von ihm angenommene Funktion zu erbringen.

Bei Kylin (1957, 1956), Fritsch (1945) und Küster (1956) werden die Inhaltskörper von *Laurencia obtusa* nicht erwähnt.

## II. Versuche

Die Frage nach der Organellen-Natur der Gebilde ließ nähere Untersuchung wünschenswert erscheinen. Diese erfolgte, noch vor der Literatur-einsicht, am frischen Material.

Zunächst suchten wir uns durch Zentrifugierung ein Urteil über das relative spezifische Gewicht der Körperchen zu bilden. Zwei schwach verzweigte Sprosse wurden in gegensinniger Lage in einem Zentrifugenröhrchen montiert und 10 Min. lang in einer BTL-Zentrifuge von Baird und Tatlock mit 3000 Umdrehungen geschleudert. In beiden Stämmchen waren die Körperchen in ihrer basalen Lage verblieben. Es besteht also kein oder doch kein wesentlicher Gewichtsunterschied gegenüber dem sonstigen Zellinhalt (oder die Körperchen sind durch Stielchen o. dgl. in ihrer Lage fixiert, vgl. S. 593, 602). In den erwähnten, sternförmig angeordneten Zellgruppen waren die Gebilde größtenteils nicht im verbreiterten Zellgrund verblieben, sondern, nach vorläufiger Beobachtung, durch die Schleudering ein Stück weit verschoben; sie könnten also ein klein wenig schwerer sein als der übrige Zellinhalt.

Recht aufschlußreich waren die Veränderungen, die die Körperchen bei der Nekrose der Zelle<sup>2</sup> erfuhren. Verschiedene Tötungsarten wurden angewandt. Nur im Leben bewahren die Körperchen Form und Aussehen. Beim Zelltod degenerieren sie rasch. Dies ist wohl auch der Grund,

<sup>2</sup> Wir haben zur Zeit der Versuche J. u. G. Feldmanns (1950) aufschlußreiche Beobachtungen an nekrotischen Zellen (S. 594) noch nicht gekannt und waren durch sie nicht beeinflusst.

warum sie den Beobachtern, die nicht mit lebendem Material arbeiteten, entgehen mußten (vgl. z. B. die bei Oltmanns 1923, S. 320 wiedergegebene Abbildung nach Falkenberg 1901, 246 u. Tafel XXIII, Fig. 11—18).

Bei der Einwirkung hypertonen, zweifach eingeeengten Seewassers tritt Eindellung der Rindenzellen von den Außenflächen her oder dazu noch eine schwer sichtbare Plasmolyse ein. Dabei bleiben die Körperchen zunächst unberührt. Aber in Zellen nahe am Schnitttrand, die geschädigt werden, sieht man Tonoplastenkonturen hervortreten und stellt dann fest, daß die Körperchen zwischen Tonoplast und Zellwand, niemals aber im Zellsaft gelegen sind.

Von Interesse sind die Nekrosebilder beim Hypotonietod. Bringt man Thallusglieder in Süßwasser oder in dest.  $H_2O$ , so dringt dieses nur ganz langsam von der Schnittfläche her ein, da die kräftige Kutikula, wie's scheint, sonst den Durchtritt verwehrt. Die Nekrose schreitet daher nur langsam von Zelle zu Zelle fort. Sie ist an der ziegelroten Verfärbung der kleinen, zungen- bis strichförmigen Rhodoplasten, ihrer Abkuglung und dem folgenden Austritt des Phykoerthrinfarbstoffs in den Zellsaft kenntlich (vgl. z. B. Höfler 1931, Wimmer und Höfler 1953). Bei unserer Alge wird der Nekroseverlauf vor allem durch die krassen Veränderungen, welche die Inhaltskörperchen erleiden, gekennzeichnet.

Ein Protokoll mag den zeitlichen Verlauf der Hypotonie-Nekrose wiedergeben.

Thessalonike, 19. April 1958.

*Laurencia obtusa*, gutes Stämmchen geteilt, Diannelidis und Höfler arbeiten mit je einer Hälfte.

In Seewasser: Inhaltskörper in allen Zellen intakt, streng basal gelagert.

- 10<sup>h</sup> 37½ In dest.  $H_2O$  übertragen.
- 10<sup>h</sup> 38 Beobachtet. Zellen am Schnittsaum leben, blähen sich auf, Inhaltskörperchen („ova“) leben.
- 10<sup>h</sup> 40' 15'' Eine Grenzzelle platzt, in den dahinterliegenden Zellen verkürzen und runden sich die vorher gestreckt-linearen Rhodoplasten.
- 10<sup>h</sup> 44 Ova unverändert.
- 10<sup>h</sup> 45—45½ Das beobachtete ovum verschwunden, obwohl Zelle noch nicht geplatzt.
- 10<sup>h</sup> 49 Jetzt 4 bis 5 Zellreihen von der Schnittfläche tot, die weiteren lebenden haben alle noch intakte ova.
- 10<sup>h</sup> 50 Zum erstenmal gesehen: eine Zelle platzt, ovum wird nach der Zellmitte geschleudert und verschwindet binnen 2 Sek.
- 10<sup>h</sup> 52 Das gleiche zum zweitenmal beobachtet.
- 10<sup>h</sup> 51 Es gibt am Rand der lebenden Fläche Zellen, wo die Rhodoplasten schon kugelig und ziegelrot verfärbt und die ova doch noch intakt sind; sie haben ihre Form noch gar nicht geändert.
- 10<sup>h</sup> 54 Innen alles unverändert intakt. Das dest. Wasser dringt sichtlich nur von der Schnittfläche her ein.
- 10<sup>h</sup> 59 Eine andere Nekrose: Ohne daß die Zelle platzt, wird die Kontur des „ovum“ plötzlich unscharf, sie verschwimmt und der Inhalt vergrößert sich stark und bleibt dann als leicht trübkörnige Kalotte mit schwer sichtbarer Kontur, als kugelsegmentförmiger, der Zellwand anliegender Körper in der Zelle erhalten.



- 11<sup>h</sup> 0 ff. Der gleiche Vorgang in anderen Zellen beobachtet. Solche Zellen scheinen nun im Übersichtsbild kein ovum mehr zu enthalten, obwohl die abgekugelten Rhodoplasten noch vorhanden sind.
- 11<sup>h</sup> 04 In einer Grenzzelle Tonoplast sichtbar, ovum liegt deutlich außerhalb.
- 11<sup>h</sup> 05 Zwei Zellen geplatzt, ovum nach der Zellmitte geschleudert und auch schon verschwunden. Die Zelle wird durch die turgeszenten Nachbarn auf einen Bruchteil ihres früheren Volums verkleinert.
- 11<sup>h</sup> 07 Jetzt Front zwischen lebenden und toten Zellen 8 bis 14 Zellreihen von der Schnittfläche.
- 11<sup>h</sup> 08 Eine dritte Art der Nekrose zu beobachten; in Grenzzellen werden die ova größer, erscheinen nicht mehr prall und stark lichtbrechend.
- 11<sup>h</sup> 10 An der Front doch viele Zellen mit noch intakt erscheinendem ovum, obwohl die Rhodoplasten kugelig-klumpig und ziegelrot.
- 11<sup>h</sup> 14—15 In Zellen, die unter Austritt des Phykoerythrins in den Zellsaft absterben, ohne zu platzen, wird das ovum nicht aus der basalen Lage entfernt; es vergrößert sich aber, wird matt, körnelig und bleibt dann als faltiger Klumpen am Platze liegen. Dazwischen viele Zellen mit ziemlich intakt erscheinendem ovum.
- 11<sup>h</sup> 21 Volumen klumpig aufgequollener ova etwa vier- bis sechsmal größer als im Normalzustand.
- 11<sup>h</sup> 22 Jetzt Front bis etwa 40 bis 50 Zellreihen von der Schnittfläche her vorgedrungen.
- 11<sup>h</sup> 25—27 Es gibt viele Nekrosen, wo das ovum plötzlich unscharf wird, dann binnen 2 bis 3 Sek. aufquillt, worauf die gequollene Masse wieder kollabiert. Dies scheint die häufigste Nekroseform, wo das ovum vor dem Tonoplasten abstirbt; Rhodoplasten ziegelrot, Zellsaft aber, solange der Tonoplast erhalten, noch nicht gerötet.
- 11<sup>h</sup> 30 Jetzt viele kleine tote Zellen auch zwischen den größeren turgeszenten im lebenden Areal.
- 11<sup>h</sup> 33—35 Zellen größtenteils tot, im toten jüngeren Gewebeteil in der Vorderhälfte des Stämmchens haben etliche Zellen noch die toten ova erhalten, die oval und mäßig vergrößert sind, aber den Glanz, die starke Lichtbrechung ganz verloren haben; sie erscheinen leicht bräunlich verfärbt.
- 11<sup>h</sup> 42 Jetzt etwa zwei Drittel der Zellen des Stämmchens tot, ein Drittel lebend. Präparat bleibt eingestellt.
- 13<sup>h</sup> Alle Zellen tot, alle Zellsäfte rosa. Im zuletzt abgestorbenen Teil, also dort, wo das Süßwasser am langsamsten eindrang, sind die ova relativ am besten erhalten, manche sind noch derb konturiert, alle sind stark vergrößert. — Beim langsamem Hypotonietod werden die Inhaltskörperchen also gewissermaßen fixiert.

Wir finden also etwa drei Hauptformen der Nekrose, die aber durchwegs zur letalen Veränderung oder Zerstörung der Inhaltskörperchen führen.

Recht auffällig verliefen weiter einige Versuche über die Wirkung von Fixiermitteln bei unter Deckglas vorgenommener Fixierung. Bei Verwendung von Karmin-Essigsäure ist das Verhalten der Körperchen vom gewohnten Verhalten der Zellkerne gegensätzlich verschieden. Anfangs

trüben und vergrößern sich die Körperchen. Recht bald, nach etwa 2 bis 3 Min., tritt eine Entmischung des gequollenen Inhalts ein, aus dem nun unter den Augen des Beobachters zahlreiche stark lichtbrechende Flüssigkeitskügelchen frei werden. Im weiteren Verlauf scheinen die ganzen Körperchen zu einem Haufen stark lichtbrechender Kugeln sich umzuwandeln, die erst farblos sind und nachher, etwa von der 8. Min. an, langsam den Karminfarbstoff speichern. Die Bilder sind im einzelnen verschieden, grundsätzlich verläuft die Nekrose überall ähnlich.

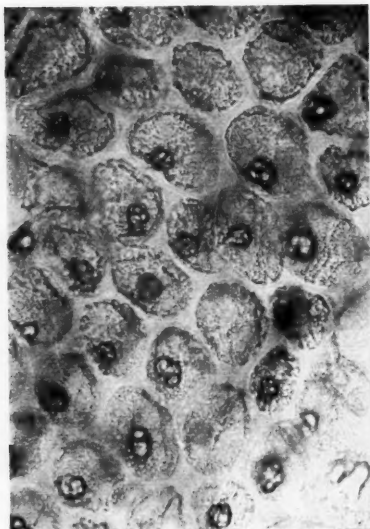


Abb. 7.

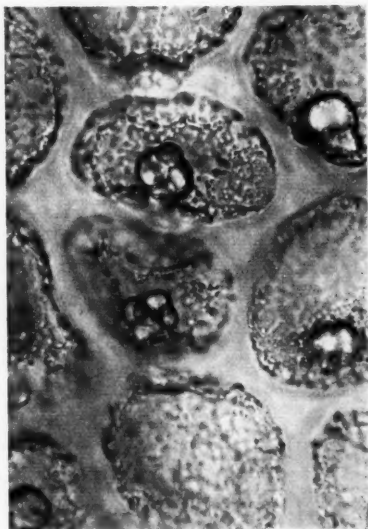


Abb. 8.

Abb. 7 und 8. Präparat seit 10 Minuten in Essigsäure (Eisessig 1 : 3).

Es war zu erwarten, daß die Essigsäure das bei der Entmischung und Tröpfchenbildung wirksame Agens ist. Reine Essigsäure (durch Verdünnung von Eisessig mit 2 Teilen  $H_2O$  hergestellt) wirkte auch durchaus ähnlich. Die Nekrose verläuft im Essig sehr gleichmäßig in allen Zellen und führt zu Kugelhaufen (Abb. 7, 8), worin die ölarartigen Tröpfchen sich schließlich derart aneinander abplatten, daß gelegentlich malachitartige Formen entstehen. Die Reste koagulierten Plasmas sind überall mehr oder minder deutlich sichtbar.

Auch Tötung durch etwa 60% Äthylalkohol ergab ähnliche Bilder. Wie früher beschrieben, folgten aufeinander als Phasen der Nekrose Vergrößerung der Körperchen, Trübung und Entmischung, aber das Tempo des Ablaufes war noch schneller.

Die Beobachtungen zeigen, daß in den Körperchen eine stark lichtbrechende und offenbar mit Wasser nicht mischbare Flüssigkeit vorhanden

ist, die man schon dem mikroskopischen Bild nach als ein Öl ansprechen möchte, außerdem aber unverkennbar auch ein plasmatisches Stroma.

Ließ man 5%ige Kalilauge auf *Laurencia* einwirken, so verfärbten sich die Thallusstücke sofort nach Grün. Die Zellwände verquellen stark. Die Inhaltskörperchen quellen zu bohnenförmiger Gestalt auf und erreichen bedeutende Größe, aber sie sind nach 2 bis 3 Min. noch glatt und unvermindert stark lichtbrechend. Nach 4 Min. wird in manchen der Inhalt trübe. Die Körperchen haben jetzt infolge der Aufquellung mehrfach etwa  $\frac{1}{3}$  bis  $\frac{2}{3}$  der Zellhöhe erreicht; ihre Kontur erscheint sehr verschärft. Nach 6 Min. treten im Inhalt ganz kleine Tröpfchen auf. In manchen Körperchen hebt sich an der Konvexseite der feintropfige Inhalt von der derb gewordenen Wandung ab. 10 bis 20 Min. nach Beginn der Laugeneinwirkung wird im Thalluszweig ein deutlicher Gradient von der Basis zur Spitze sichtbar. In den jungen Zellen zeigen die noch kleineren Körperchen eine mehr diffuse Trübung des Inhaltes, einige davon auch stärkere Abhebung auf der konvexen Kontur. Im unteren, älteren Stämmchenteil zeigen mehrere auch in der KOH im Inneren größere klare Entmischungskugeln. Im Endzustand (nach 145 Min.) sind die meisten Inhalte blasig bis morulaartig entmischt, einzelne aber bräunlich trüb und von homogenem Aussehen. In manchen Körperchen könnte das Bild des Inhaltes einer beginnenden Verseifung entsprechen. In 1%iger KOH erfolgen die Veränderungen entsprechend langsamer. Erst nach 5 Min. beginnt in einigen Schnitttrandzellen leichte tropfige Körnelung, nach 20 Min. sind die Körperchen stark vergrößert; es fällt auf, daß oft die feintropfige Entmischung nur einseitig, u. zw. an der der Zellmembran anliegenden Seite der Körperchen begonnen hat. —

Wir haben ferner am frischen Material einige Vitalfärbungsversuche ausgeführt. Wir gingen von Stammlösungen 1:1000 von Neutralrot, Brillanteresylblau (Grübler) und Rhodamin B in glasdest.  $\text{H}_2\text{O}$  aus und stellten die Gebrauchslösung von 1:5000 Neutralrot und Rhodamin B usw. und 1:10.000 Brillanteresylblau, Toloidinblau und Akridinorange durch Verdünnung mit Seewasser her. Die leichte Hypertonie von 0,9 bis 0,8 kann als unschädlich gelten<sup>3</sup>, vgl. Biebl (1937 f.). Es wurden teils Thallusstückchen, worin die Farblösung nur von den Schnittflächen her eindringt, teils vom Kutikularschutz befreite Längsschnitte untersucht. Beide wurden in große Tropfen der Farblösungen für 10 bis 12 Min. eingetaucht. Sodann wurde mit Deckglas bedeckt und mit Filterpapier reines Seewasser durch die Präparate gesaugt oder derbere Thallusstückchen mit der Pinzette in Tropfen reinen Seewassers übertragen.

Das Ergebnis der Versuche war recht interessant. Unerwartet war die Verschiedenartigkeit der Wirkung der verwendeten basischen Farbstoffe. — Brillanteresylblau färbte am besten. Bald nach Ablauf der Färbezeit im Seewasser untersucht, zeigten schon 3 bis 5 Zellreihen von der Schnittfläche die Körperchen eine leicht himmelblaue Färbung bei sonst völlig normalem

<sup>3</sup> Doch war das zur Auffüllung der Farblösungen verwendete Seewasser aus der Bucht von Thessaloniki schwächer konzentriert als das Wasser vom Standort der *Laurencia* in Mykonos, wodurch die Hypotonie verstärkt wird.

Aussehen. Mit Neutralrot waren die Zellsäfte der Rindenzellen diffus-rosa gefärbt und die überall unversehrt verbliebenen Körperchen leuchteten ungefärbt aus dem Inhalt hervor. Auch Rhodamin B, der durch seine Unschädlichkeit bekannte undissoziierte Basenfarbstoff, ließ die lebenden Körperchen ungefärbt und dies auch in der Schnitttrandnähe, wo die Farbbase doch ebenso gut wie das Brillantcresylblau hatte in die Zellen eindringen können. Bei Wiederholung verlief der Versuch, der die Färbewirkung der drei Farbstoffe verglich, ebenso.



Abb. 9. Tote Elaioplasten, mit Nilblau stark schwarzblau angefärbt.

Ließ man aber die gefärbten Präparate in farbfreiem Seewasser einige Zeit liegen, so zeigte sich das Bild verändert. In Brillantcresylblau waren jetzt auch in ganzen (nur durch Querschnitte abgetrennten) Thallusgliedern in allen Zellen die intakten Körperchen schön und satt himmelblau angefärbt, so daß nun die beste Elektivfärbung erzielt worden war. (Allerdings hatte am Schnitttrand zuvor adsorptive Farbanhäufung in Zellmembranen stattgefunden und es konnte sich überschüssige Farbe von hier aus im Präparat verteilt haben, auch während die Alge bereits im farbfreien Seewasser lag.) Im Neutralrot- und Rhodamin-Versuch waren die Körperchen bei gleichzeitiger Beobachtung noch ungefärbt geblieben. — Bei Versuchen mit des Kutikularschutzes beraubten Schnitten war nach einhalb Stunden im Brillantcresylblau die vitale himmelblaue Elektivfärbung der Körperchen allgemein, aber auch im anfänglich mit Rhodamin B gefärbten Schnitt war eine gleichmäßig lichtrotlila Färbung zustandegekommen.

Von Interesse war das Verhalten mit Akridinorange gefärbter Präparate im Fluoreszenzlicht. Die Parenchymzellen im Innern des Thallus und zum Teil auch die Zellen der Rinde zeigten schon im Hellfeld eine diffuse gelbe Zellsaftfärbung, der im UV-Licht in bekannter Weise eine rote Fluoreszenzfärbung entspricht. Es handelt sich also um „leere“ Zellsäfte, wie sie von Höfler, Uhl und Diskus (1956) auch anderwärts bei Rotalgen nachgewiesen worden sind. Die Körperchen, im Hellfeld farblos, leuchteten im UV-Licht grün bis bläulichgrün, zeigten also — ebenso wie im Brillantcresylblau — den für chemische Bindung charakteristischen Farbton, d. i. „negative Metachromasie“ nach Lisons (1950) und Kinzels (1958) Terminologie. Im UV-Licht wies auch das erwähnte Rhodamin B-Präparat eine gleichmäßige, hell ockergelbe Fluoreszenz der Körperchen auf dunklem Grunde auf. Es war also schließlich Elektivfärbung auch hier eingetreten.

Nekrotische bzw. tote, im Aussehen veränderte Körperchen an den

Schnittträgern speichern wie zu erwarten alle angewandten Farben rasch, und zwar mit den von totem Protoplasma her bekannten Farbtönen (vgl. Abb. 9).

Mit dem sauren Farbstoff Uranin (Natriumfluoreszein) behandelt, erwiesen sich die Körperchen bei Beobachtung im UV-Licht als völlig fluoreszenzfrei. Die Lösung 1 : 2000 in Seewasser war auf saure Reaktion gebracht worden.

Es gelang, einen Rest des Materials, in Thermosflasche kühl transportiert,

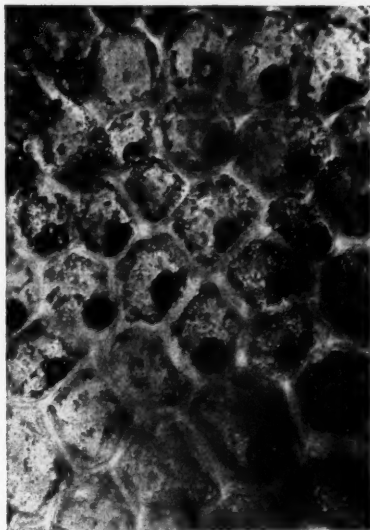


Abb. 10.



Abb. 11.

Abb. 10 und 11. Nekroseformen der Elaioplasten nach Färbung mit Nilblau 1 : 5000 durch 20 bzw. 30 Min.; in Abb. 11 Myelinschläuche sichtbar.

am 27. April lebend nach Wien zu bringen. Hier wurden die beschriebenen Versuche zur Nekrose in dest.  $H_2O$  und Essigsäure und zur Vitalfärbung mit Brillanteresylblau, Rhodamin B und Uranin wiederholt und es wurden Schwarzweiß- und Farbphotos angefertigt<sup>4</sup>. Zu den Färberversuchen wurde noch Nilblau (1 : 5000 und 1 : 10 000 in Seewasser) herangezogen.

Die Versuche über den Nekroseverlauf und über Färbung mit Rhodamin und Uranin verliefen ganz so wie vorher in Thessalonike. Mit Nilblau tingierten sich die Körperchen in lebenden Zellen langsam zum Ton, der der negativ metachromatischen Färbung entspricht, in nekrotischen und toten aber rasch zu trübblauem Farbton, der von totem Plasma be-

<sup>4</sup> Für die Herstellung sagen wir Herrn Assistenten Dr. W. Uhl herzlichen Dank.

kannt ist und im wesentlichen vom gefärbten plasmatischen Stroma der Körperchen verursacht sein kann. Bei Überfärbung (30 Min. Einwirkung von 1 : 5000) gelang es, in nekrotischen Zellen in den Körperchen auch die entmischten Öltropfen (Abb. 10, 11) anzufärben.

Aufschlußreich war zumal das Ergebnis der Färbung in Nilblau-Seewasser, welches auf pH 9 gebracht worden war. Hier waren in nekrotischen Zellen die aus den Körperchen entmischten Ölmassen mit aller Deutlichkeit orangebraun gefärbt, ganz ebenso wie dies u. a. Höfler und Diskus (1957) für die Färbung der Fetttropfen in nekrotischen Zellen von Süßwasseralgen ausführlich beschrieben haben. Bekanntlich färbt Nilblau polar gebaute Lipide blau, Neutralfette orangerot. Die Organellen von *Laurencia* enthalten also Neutralfett. Dies wurde durch Färbung mit Sudan III bestätigt und ist ja schon von Golenkin (1894) und Feldmann (1950) nachgewiesen worden. Daß außerdem eine Komponente polar gebauter Lipide am Aufbau beteiligt sein kann, wird wahrscheinlich aus Bildern wie dem in Abb. 11 wiedergegebenen, welches nekrotische Inhaltkörperchen nach Dauerfärbung mit Nilblau (1 : 5000, 30 Min.) in Seewasser von natürlichem pH darstellt. — Der Versuch, nach Feldmanns Vorgang mit frisch bereitetem Schiffschem Reagens auch eine Aldehydkomponente nachzuweisen, ist nicht gelungen, was aber nicht ausschließt, daß eine Wiederholung solcher Versuche zu positivem Ergebnis führen könnte; die in nekrotischen Protoplasten ziemlich gut erhaltenen Körperchen färbten sich bei der Schiffschens Reaktion nur schwach grüngelb, nicht rot.

Hansen (1892) und Feldmann (1950) haben wie erwähnt (S. 593 f.) Stielchen der Inhaltkörper abgebildet, die in den Rindenzellen etwa den Durchmesser der letzteren an Länge erreichen. Wir haben solche Stielchen an unserem Material auch bei wiederholtem Suchen nicht auffinden können. Hingegen stimmt ein photographisches Bild der Zellen von Neapeler *Laurencia obtusa* bei Funk (1955, Taf. XXVI, Fig. 10), welches die stark lichtbrechenden Körperchen ohne Stiel der Basalwand der Rindenzellen anliegend darstellt, mit den an unserem Material beobachteten Bildern bestens überein.

### III. Besprechung und Zusammenfassung

Sind die von uns untersuchten auffälligen Körperchen in den Rindenzellen von *Laurencia obtusa* tote Inhaltkörper oder lebende Organellen?

Sicherlich liegen die Körperchen im Plasma. Kennzeichnend ist ihre polare Lage in den Zellen. Die Regelmäßigkeit der Lagerung an der basalen Zellseite ist auffällig und erscheint als spezifisches Merkmal, da solche Lagerung sich bei vergleichbaren Inhaltkörpern anderer Zellen kaum wiederfindet (vgl. Küster 1956, Bünnig 1958). Die Körperchen liegen in Einzeln in den Zellen und nur selten zu zweit in einer Zelle. Die Veränderungen der Gebilde beim Fixieren, beim Hypotonietod und anderen Tötungsarten weisen darauf hin, in ihnen eine lipoiden, öltartige Flüssigkeit als quantitativ vorwiegende chemische Komponente, dazu aber ein plas-



matisches Stroma anzunehmen<sup>5</sup>. Wir glauben nach diesen Befunden die Frage dahin beantworten zu dürfen, daß die Inhaltskörper von *Laurencia* Zell-Organellen sind.

Wo wäre solche wohl zytologisch einzureihen, wenn unsere Annahme zurecht besteht?

Als Organellen im Zytoplasma können zur Zeit etwa gelten:

1. Die Plastiden mit all ihren Untergruppen, von denen die Chloro-, Rhodo-, Phaeoplasten der CO<sub>2</sub>-Assimilation dienen und sich durch den Gehalt an Assimilationspigmenten kennzeichnen, während Amyloplasten und andere farblose „Leukoplasten“ spezifische chemische Substanzen — Stärke, Eiweiß, Duftstoffe — in sich erzeugen.

2. Die Chondriosomen, die „als das Kraftwerk der Zelle“ (H a a s 1955) vornehmlich bei der biologischen Oxydation beteiligte Enzyme produzieren.

3. Die artspezifisch gestalteten Ölkörper der Lebermoose und die Elaioplasten oder Ölbildner in Anthophytenzellen (W a k k e r 1892, Z i m m e r m a n n 1893, R a c i b o r s k i 1893, 1897, P o l i t i s 1911), die mit jenen im Gehalt an Öl und durch das Vorhandensein einer eiweißreichen Grundlage übereinstimmen (vgl. K ü s t e r 1956, S. 481, M o l i s c h 1923, S. 398).

4. Die Physoden, unter welchem Begriff die Fukosankörner der Braunalgen und die plasmatisch umhüllten Gerbstoffbläschen der Zygnemales zusammengefaßt werden mögen.

Weitere Gruppen reihen sich an. Ob auch die Sphärosomen daher zu stellen wären, ist strittig.

Die Autoreduktion zum Kriterium der Organellenatur von Zellinhaltskörpern zu machen, geht praktisch schwer an, schon weil der zytologische Nachweis alleiniger Entstehung aus ihresgleichen bekanntlich auf große Schwierigkeiten stößt. Man denke nur an den jahrzehntelangen Kampf, der nötig war, um für die Plastiden die Kontinuität der Entwicklung zu sichern, und an die höchst wahrscheinliche (G e i t l e r 1955, S. 140), aber noch heute nicht einstimmig anerkannte Autoreduktion der Chondriosomen. Die Frage für die elektronenoptisch neu entdeckten Plasma-inhaltskörperchen (S t r u g g e r 1957) aufzuwerfen, wäre offenbar verfrüht.

Doch ist festzuhalten, daß ein Zellinhaltskörper nur dann den Namen eines Zellen-Organells verdient, wenn er eine plasmatische Komponente führt, d. h. wenn Stroma oder Hülle oder beides plasmatischer Natur sind, und wenn er nicht im Zellsaft, sondern im Plasma entsteht; dabei darf unentschieden bleiben, ob er aus wesensgleichen Anlagen sich bildet, wie die

<sup>5</sup> Wir können uns nicht entschließen, sie im Sinne der französischen Autoren (vgl. S. 594) als „Spezialvakuolen“ (vacuoles spécialisées) aufzufassen. P. D a n g e a r d s (1956, S. 34) jüngste Darstellung läßt auch die Zugehörigkeit der jodspeichernden Blasen in den Iodiques der Ceramiaeen und Bonnemaisoniaceen zu den „vacuoles speciales“ fraglich erscheinen. „Peut-être en est-il de même pour les corps en cerise de *Laurencia obtusa* ou les globules réfringentes des cellules de *Plocamium coccineum*.“ Vgl. D a n g e a r d 1947, S. 507.

Plastiden aus Proplastiden, oder sich während der Ontogenese der Zelle aus dem Zytoplasma herausdifferenziert, wie das wahrscheinlich für die Physoden der *Zygnemales* zutrifft.

Welchen von den oben aufgezählten Organellen sind nun die polar gelagerten Gebilde in den *Laurencia*-Zellen vergleichbar?

Morphologisch unähnlich sind sie den irisierenden Körpern, die roten (und braunen) Meeresalgen eigentümlich sind und denen sie Berthold (1882) anreihete. Auch spricht nichts dafür, daß sie gleich jenen in der Zelle unter dem Lichteinfluß taktisch ihre Lage zu ändern vermöchten, es ist im Gegenteil die ständig polare Lage für sie kennzeichnend. Daß sie nicht irisieren, hebt Dangeard (1940, S. 58) in seiner Bearbeitung der irisierenden Algen-Zelleinschlüsse hervor.

Von den „Physoden“ sind sie chemisch völlig verschieden. Jene bilden, soweit uns bekannt, gerbstoffähnliche Substanzen. Dies ist für Conjugaten seit Pfeffer (1887) bekannt und ist noch augenfälliger bei den Phäophyten; für fukosanreiche *Ectocarpus*-Arten fanden auch wir wieder bei Färbung mit Rhodamin B und Brillanteresylblau rapide Anfärbung zu kardinalvioletten Tönen, während die lebenden *Laurencia*-Körperchen sich in gleichlaufenden Versuchen binnen kurzer Zeit gar nicht, in länger dauernden Versuchen sich nur ganz langsam und zu anderen Farbtönen tingieren (vgl. Feldmann 1950).

Morphologisch am ähnlichsten erscheinen noch die Ölkörper der Lebermoose. Von den mannigfachen Formen, worunter diese begegnen, sind etwa einfach eiförmige (*Haplozia tristis*) gut vergleichbar (s. Müller 1939). Gemeinsam ist auch die sehr rasche Degeneration bei letaler Schädigung der Zellen. Auch das Aussehen des als Hauptkomponente enthaltenen Öles ist ähnlich. Das Färbeverhalten erscheint verschieden, indem die Organellen von *Laurencia* die üblichen basischen Vitalfarben (wenn auch langsam) speichern, während ja die Ölkörperchen der Hepatica dazu innerhalb der lebenden Zelle nicht in gleicher Weise befähigt sind. Freilich bleibt die Frage noch offen, ob und inwieweit nach anfänglicher Nichtfärbbarkeit die spätere Färbbarkeit der *Laurencia*-Körperchen doch mit leichter beginnender degenerativer Veränderung zusammenhängt. Der Inhalt der Lebermoos-Elaioplasten besteht zum wesentlichen Teil aus ätherischen Ölen, während wir in den *Laurencia*-Körperchen Neutralfette in Bestätigung Feldmanns nachgewiesen haben, ätherische Öle bzw. ihre Aldehydkomponenten aber noch nicht finden konnten.

Als Zellen-Organellen dürfen die von uns studierten Gebilde in den Rindenzellen von *Laurencia obtusa* wohl sicher gelten. Sie haben eine plasmatische Hülle, produzieren chemisch spezifischen Inhalt und erleiden beim Zelltode eine rasche Nekrose von typischem Verlauf. Es steht zur Frage, ob sie sich einer der früher aufgezählten Gruppen von Plasma-Organellen zuordnen oder einer eigenen Klasse lebender Inhaltskörper angehören, die dann den oben (S. 603) aufgezählten zu koordinieren wäre. Letzteres wäre der Fall, wenn sie sich etwa ihrer ontogenetischen Entstehung nach als homolog den irisierenden Platten, vielleicht auch den als „Blasen“ bezeichneten Inhaltskörpern der Blasenellen der *Ceramiales* (vgl. Biebl 1959,

Höfler 1956) und weiteren, bei P. Dangeard (1941) behandelten Zeleinschlüssen der Rhodophyceen erwiesen.

Als „Elaioplasten“ darf man sie bezeichnen. Das Vorkommen solcher erscheint nicht nur bei Lebermoosen, sondern auch bei Gefäßpflanzen, zumal in mehreren Monokotylenfamilien gesichert, wenngleich ihre Verbreitung hier beschränkt erscheint (vgl. Molisch 1923, S. 399). Bei Florideen haben zuerst Wakker (1888) und Golenkin (1894, vgl. S. 594) ihr Vorkommen postuliert, doch hielt man ihre Angaben einer Nachprüfung für bedürftig. Wir treten für ihr Vorkommen ein.

In der Darstellung der Zytologie der Rhodophyten (Kyllin 1937, 1956) werden die Elaioplasten der *Laurencia*-Rindenzellen etwa zwischen den irisierenden Platten und den Blaszellen ihren Platz finden.

#### Literatur

- Berthold, G., 1882: Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Meeresalgen. Jahrb. wiss. Bot. 13, 685.
- Biebl, R., 1937: Ökologische und zellphysiologische Studien an Rotalgen der englischen Südküste. Beih. bot. Zbl., Abt. A 57, 381.
- 1938: Trockenresistenz und osmotische Empfindlichkeit der Meeresalgen verschieden tiefer Standorte. Jahrb. wiss. Bot. 86, 350.
- 1958: Temperatur- und osmotische Resistenz von Meeresalgen der bretonischen Küste. Protoplasma 50, 217.
- 1959: Zellphysiologische Beobachtungen an Blaszellen einiger Rotalgen. Botanica Marina, Bd. 1 (im Druck).
- Bünning, E., 1958: Polarität und inäquale Teilung des pflanzlichen Protoplasten. Protoplasmatologia, Bd. 8, 9 a.
- Chadefaud, M., 1935: Le cytoplasme des algues brunes, ses éléments figurés et ses inclusions. Thèse, Paris, p. 231. (Zitiert bei: Feldmann 1958. Recherches sur la végétation marine de la méditerranée, Rev. Algol. X, p. 75.)
- Dangeard, P., 1940: Recherches sur les enclaves iridescentes de la cellule des algues. Le Botaniste 31, 31.
- 1947: Cytologie végétale et cytologie générale. Encyclopédie Biologique XXVI. Lechevalier, Paris.
- 1956: Le vacuome de la cellule végétale. Morphologie. Protoplasmatologia, Bd. III, D.
- Diannelidis, Th., 1950: Περί τῆς Ἑλληνικῆς θαλασσίας χλωρίδος καὶ τῆς χρησιμοποιούσεως αὐτῆς. Greek Marine Flora and its Utilisation. Practise Hellenic Hydrobiological Inst., Athenai III, 71.
- Falkenberg, P., 1901: Die Rhodomelaceen des Golfes von Neapel und der angrenzenden Meeresabschnitte. Fauna und Flora des Golfes von Neapel, 26.
- Feldmann, J. et G., 1950: Les „corps en cerise“ du *Laurencia obtusa* (Huds.) Lamour. C. r. Acad. Sci. Paris, 231, 1335.
- et Mazoyer, G., 1940: Recherches sur les Céramiacées de la Méditerranée occidentale. Impr. Minerva, Alger.
- Fritsch, F. E., 1945: The structure and reproduction of the algae. Vol. II. Cambridge.
- Funk, G., 1927: Die Algenvegetation des Golfes von Neapel. Pubbl. Staz. Zool. Napoli, Vol. 7, Supplemento.
- 1955: Beiträge zur Kenntnis der Meeresalgen von Neapel, zugleich mikrophotographischer Atlas. Ebenda, Vol. 25, Supplemento.

- Geitler, L., 1955: Normale und pathologische Anatomie der Zelle. Ruhlands Handb. d. Pflanzenphysiologie, Bd. I, 123.
- Golenkin, M., 1895: Algologische Notizen. Bulletin de la Société Impériale des Naturalistes de Moscou, N. S. VIII, 257.
- Haas, J., 1955: Physiologie der Zelle. Borntraeger, Berlin-Nikolassee.
- Hansen, A., 1892: Über Stoffbildung bei den Meeresalgen. Mitteil. Zool. Station Neapel 11, 255.
- Höfler, K., 1951: Hypotonietod und osmotische Resistenz einiger Rotalgen. Österr. bot. Z. 80, 51.
- 1956: Über Plastiden und Blaszellen der Rotalgen. Pubbl. Staz. Zool. Napoli, 28, 255.
- und A. Diskus, 1957: Vitalfärbungen mit Nilblau und Brillantresylblau. Protoplasma 48, 429.
- W. Uhl und A. Diskus, 1956: Zellphysiologische Beobachtungen und Versuche an Algen der Lagune von Venedig. Boll. Museo Civico Venezia, Vol. IX, 63.
- Kinzel, H., 1958: Metachromatische Eigenschaften basischer Vitalfarbstoffe. (Eine Studie zum cytochemischen Aspekt der Vitalfärbung.) Protoplasma 50, 1.
- Küster, E., 1956: Die Pflanzenzelle. 3. Aufl., unter Mitw. von K. Höfler hgg. von G. Küster-Winkelmann. G. Fischer, Jena.
- Kylin, H., 1937: Anatomie der Rhodophyceen. Handb. d. Pflanzenanatomie, Bd. VI, 2. Teilband: Algen, B. g.
- 1956: Die Gattungen der Rotalgen. Gleerups Förlag, Lund.
- Lison, L., and W. Mutsaers, 1950: Metachromasy of nucleic acids. Quart. J. Microsc. Sci. 91, 509.
- Molisch, H., 1923: Mikrochemie der Pflanze. 3. Aufl., G. Fischer, Jena.
- Müller, K., 1939: Untersuchungen über die Ölkörper der Lebermoose. Ber. dtsh. bot. Ges. 57, 326.
- Oltmanns, F., 1922: Morphologie und Biologie der Algen, 2. Aufl., Bd. 2, G. Fischer, Jena.
- Pfeffer, W., 1886: Über Aufnahme von Anilinfarben in lebende Zellen. Unters. Bot. Inst. Tübingen, Bd. 2, 179.
- Politis, I., 1911: Sugli Elaioplasti nelle Mono- e Dicotyledoni. Atti Accad. Lincei, Bd. XX, 599.
- Raciborski, M. I., 1895: Über die Entwicklungsgeschichte der Elaioplasten der Liliaceen. Anz. Akad. Wiss. Krakau 1895, 259. Vgl. Flora 83, 75.
- Rechinger, K. H., 1943: Flora Aegaea. Denkschr. Österr. Akad. Wiss., math.-nat. Kl. 105, 1.
- Schiffner, V., und B. Schussnig, 1943: Algae, in Rechinger l.c.
- Strügger, S., 1957: Schraubig gewundene Fäden als sublichtmikroskopische Strukturelemente des Cytoplasmas. Ber. dtsh. bot. Ges. 70, 91.
- Wakker, J. H., 1888: Studien über die Inhaltskörper der Pflanzenzelle. Jb. wiss. Bot. 19, 423.
- Wimmer, Chr., und K. Höfler, 1953: Über die Eigenfluoreszenz lebender, absterbender und toter Florideenzellen. S.B. Öst. Akad. Wiss., math.-nat. Kl., Abt. I, 162, 625.
- Zimmermann, A., 1893: Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle. Bd. 1, Tübingen.

Ausführlich werden „corps en cerise“ von *Laurencia obtusa* in einer während des Druckes erschienenen Arbeit behandelt:

Feldmann, J. et G., 1958: Recherches sur quelques floridés parasites. Revue Gén. de Botanique 65, 49 (cfr. p. 63—75).

# Untersuchungen zum Problem der Feinstruktur des Cytoplasmas der Wurzelmeristemzellen von *Allium cepa*

Von

**S. Strugger und Hildegard Lindner**

Aus dem Botanischen Institut der Universität Münster/Westfalen

Mit 14 Textabbildungen

(Eingegangen am 23. Juni 1958)

1956 konnte Strugger an Ultradünnschnitten durch Wurzelspitzen von *Allium cepa*, welche mit Osmiumsäure fixiert und mit Uranylacetat nach Strugger (1956) kontrastiert wurden, schraubig gewundene Fäden als sublichtmikroskopische Bauelemente des Cytoplasmas beschreiben. Diese Untersuchungen wurden von Strugger (1957) vertieft, und es konnte an Hand von Modellen durch eine vergleichende Untersuchung eines umfangreichen elektronenmikroskopischen Aufnahmematerials der Beweis erbracht werden, daß die bisher in der zoologischen aber auch in der botanischen Literatur (Palade 1955, Lund, Vatter, Hanson 1958, Roullier et Fauré-Fremiet 1958) festgestellten „globulären“ sublichtmikroskopischen Partikel des Cytoplasmas in Wirklichkeit durchschnittene, schraubig gewundene sublichtmikroskopische Fäden sind, welche als disperse Phase im Cytoplasma statistisch isotrop in dichter Anordnung verteilt liegen.

Es ist selbstverständlich, daß diese neugewonnenen Erkenntnisse zunächst nur eine Gültigkeit für die angegebenen Präparationsbedingungen (Fixierung und Kontrastierung) haben konnten. Die Frage, inwieweit diese von Strugger als Cytonemata bezeichneten Strukturelemente in vivo im Cytoplasma vorhanden sind, wurde in diesen Arbeiten als wahrscheinlich angesehen, aber es wurde gleichzeitig von Strugger (1957) darauf hingewiesen, daß in geplanten neuen Untersuchungen die Frage des Artefaktproblems einer Klärung zugeführt werden muß. Weissenfels (1957) veröffentlichte bald danach eine Mitteilung, in welcher er im Grundcytoplasma tierischer Zellen ebenfalls auf elektronenoptischem Wege schraubig gewundene Fäden nachweisen konnte. Auch diese Untersuchungen wurden von Weissenfels (1958) weiter vertieft, wobei er zum Schluß kommt, daß auch das Cytoplasma tierischer Zellen eine disperse Phase besitzt,

welche aus schraubig gewundenen sublichtmikroskopischen Fäden besteht, deren Dimensionen in der Größenordnung mit den von Strugger (1956, 1957) gefundenen Cytonemata weitgehend übereinstimmen. Die Präparationsbedingungen waren bei den Untersuchungen von Weissenfels ähnlich wie bei den Untersuchungen von Strugger.

Menke (1957) hat Studien über das Artefaktproblem im Zusammenhange mit der elektronenmikroskopischen Untersuchungstechnik veröffentlicht. In diesen Arbeiten wird von Menke auch das von Strugger aufgeworfene Problem der Cytonemastruktur des Cytoplasmas besprochen. Menke hat zwar die Untersuchungen von Strugger nicht rekonstruiert; er äußert sich auf Grund von Modellversuchen an isolierten Chloroplasten so, daß er die Meinung vertritt, daß die von Strugger (1956, 1957) aufgefundenen schraubig gewundenen Cytonemata Artefaktstrukturen, hervorgerufen durch Ausfällung der Kontrastierungsmittel (Urandoxyd), sein könnten.

So fruchtbar diese kritische Äußerung Menkes für die Elektronenmikroskopie sein mag, ist es dagegen grundsätzlich wichtig, ein solches Problem am gleichen Objekt mit einer entsprechenden Fragestellung zu prüfen, weil nur so eine Klärung des Cytonemaproblems überhaupt erreicht werden kann.

Die vorliegende Arbeit soll am Originalobjekt (Meristemzellen der Wurzelspitze von *Allium cepa*) die Frage entscheiden, ob die von Strugger (1956, 1957) aufgefundenen Cytonemata ein Fixierungs- bzw. ein Kontrastierungsartefakt sein können. Daher wurde in systematischer Weise die Methodik variiert. Zunächst wurde bei gleichbleibender Kontrastierung (Uranylacetat bzw. Osmiumsäure + Uranylacetat) eine Variation der Fixationsmittel durchgeführt und mit Hilfe der Elektronenmikroskopie die Feinstruktur des Cytoplasmas bei verschiedenartiger Fixation studiert. Diese Versuchsreihe ist nicht nur für das speziell vorliegende Problem bedeutungsvoll, sondern ganz allgemein für die elektronenmikroskopische Methodik von großem Interesse. In diesem Zusammenhange sollten auch die Untersuchungen von Bretschneider (1950) geprüft und mit Hilfe der inzwischen weitgehend verbesserten elektronenmikroskopischen Untersuchungstechnik erweitert werden.

Eine zweite Versuchsreihe wurde bei konstanter Fixation (osmiumsäurefreies Fixationsmittel, Gemisch nach Kopsch-Regaud) und variiertter Kontrastierung (Osmiumsäure, Uranylacetat, Wismutkomplex, Caesiumchlorid, Kaliumbichromat) durchgeführt.

Diese Art der Versuchsanstellung gestattet folgende Entscheidungen:

1. Es kann festgestellt werden, welchen Einfluß die Fixation auf den elektronenmikroskopischen Aspekt des Cytoplasmas ausübt und ob die schraubig gewundenen Cytonemata bei verschiedener Fixation noch beobachtbar sind oder durch ungeeignete Fixationsmittel weitgehend zerstört werden.
2. Es kann entschieden werden, ob nach Kontrastierung mit chemisch verschiedenartigsten Kontrastierungsmitteln sich irgendetwas am elektronenmikroskopischen Aspekt des Cytoplasmas ändert oder nicht.



Sollte die Kritik Menkes zu Recht bestehen, so müßte bei konstanter Fixation und chemisch verschiedenartiger Kontrastierung ein höchst variabler Strukturaspekt entstehen, denn es ist wohl nicht anzunehmen, daß z. B. Caesiumchlorid auf der einen Seite und Osmiumsäure und Uranylacetat auf der anderen Seite morphologisch gleichartige artificielle Fällungen hervorrufen sollten.

## I. Untersuchungen nach verschiedener Fixation bei gleichbleibender Kontrastierung

Es seien zunächst einige allgemeine methodische Einzelheiten, welche für den gesamten experimentellen Teil gelten, angegeben. Die Zwiebeln wurden in Gläsern angetrieben, und nachdem sich in 1–3 Tagen junge, kräftige Adventivwurzeln gebildet hatten, wurden etwa  $\frac{1}{2}$  cm lange Wurzelspitzenstücke abgeschnitten und sofort fixiert. Die Fixation wird in jedem einzelnen Falle gesondert beschrieben. Die Wässerung erfolgte mit Leitungswasser, je nach dem verwendeten Fixationsgemisch 2–24 Stunden lang. Wenn mit Uranylacetat kontrastiert wurde, so wurden nach der Wässerung die Wurzelspitzen für 2 Stunden in eine 2%ige wäßrige Uranylacetatlösung eingelegt. Dann wurde 2 Stunden in Leitungswasser gewässert. Hierauf wurde mit Aqua dest. zweimal je  $\frac{1}{2}$  Std. nachgewaschen, und dann gelangten die Wurzeln in die Alkoholreihe, und zwar je  $\frac{1}{2}$  Std. in 30%, 50%, 70%, 80% und 96% Alkohol. Dann wurde zweimal je  $\frac{1}{2}$  Std. mit absolutem Alkohol behandelt. Die Einbettung erfolgte in Butylmethacrylat und Methylmethacrylat 9:1, dann wurde mit Dichlorbenzoylperoxyd im Verhältnis 90:1 im Thermostat 24 Std. bei 47° C polymerisiert. Die Ultradiünnschnitte (100–200 Å) wurden mit dem Ultramikrotom nach Sjöstrand hergestellt. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden mit dem Elmiskop IA von Siemens gewonnen. Herrn Doz. Dr. Reimer danken wir herzlich für die Herstellung der elektronenmikroskopischen Negative.

### 1. Osmiumsäure

Die Fixation der Wurzelspitzen für diese Versuchsreihe erfolgte mit 1% Osmiumsäure gepuffert auf pH 7 mit Veronalacetat. Die Dauer der Fixation betrug 2 Std. Wie für alle in diesem Kapitel beschriebenen Versuchsreihen wurde die Kontrastierung mit Uranylacetat (2%ige wäßrige Lösung) 2 Std. lang durchgeführt.

Da Strugger (1957) bereits das durch Osmiumsäure fixierte und mit nachträglicher Uranylacetatkontrastierung erhaltene Strukturbild des Cytoplasmas in einer gesonderten Arbeit beschrieben hat, kann hier eine kurze Zusammenfassung gegeben werden:

Neben den Chondriosomen, Sphärosomen, Golgiapparaten (vgl. Perner 1957) und Doppellamellen (Strugger 1957 a) ist das Cytoplasma mit scheinbar vorwiegend „globulären“ stark elektronenstreuenden Strukturelementen erfüllt. Die Analyse dieser an Ultradiünnschnitten gewonnenen Struktureinheiten ergab, daß nach Osmiumsäurefixation das Cytoplasma in einem strukturarmen, sicherlich kleinmolekularen Dispersionsmittel in großer Anzahl sublichtmikroskopisch dimensionierte, schraubig gewundene Fäden enthält, welche in der Regel statistisch isotrop gelagert sind. Diese als „Cytonemata“ bezeichneten Fäden haben folgende Dimensionen:

Fadenbreite:<sup>1</sup>

Mittelwert 150 Å, min. 110 Å, max. 220 Å

## Schraubendurchmesser:

Mittelwert 430 Å, min. 180 Å, max. 790 Å

## Ganghöhe:

Mittelwert 290 Å, min. 170 Å, max. 670 Å

Die bisher in den Ultradünnschnitten maximal beobachtbare Schraubenslänge betrug 3130 Å, wobei 12 Windungen gezählt werden konnten. Diese schraubig gewundenen Cytonemata sind die disperse Phase des Cytoplasmas, und da das Cytoplasma im lebenden Zustand ein Sol ist, so müssen für den Fall der realen Existenz dieser Cytonemata diese Gebilde im

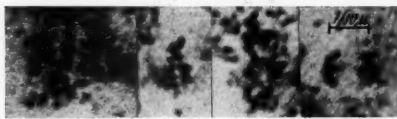


Abb. 1. Schnittbilder durch Cytonemata. Fixation: Osmiumsäure, Kontrastierung: Uranylacetat, Primärvergrößerung 8800fach, Sekundärvergrößerung 64.000fach.

Dispersionmittel des Cytoplasmas verteilt sein. Nach der Fixation mit Osmiumsäure hat das Cytoplasmasol zweifellos eine Umwandlung in den Gelzustand erfahren, wobei angenommen werden darf, daß das kleinstmolekulare Dispersionmittel koagulierte und die dispersen Phasenteilchen (Cytonemata) in dieses erstarrte kleinstmolekulare

Grundgel eingelagert bleiben. Eine Vernetzung der Cytonemata ist nach Osmiumsäurefixation für den Fall, daß das Material gut fixiert ist, nicht beobachtet worden. Nur in schlecht fixierten Wurzelzellen konnte eine Zusammenlagerung der Cytonemata zu sublichtmikroskopischen, retikulären Systemen festgestellt werden. Wir haben das Ausbleiben der Vernetzung der Cytonemata mit einem gewissen Recht immer als ein Zeichen einer guten Osmiumsäurefixation angesehen.

Auf Grund von Versuchen mit Modellen konnte klar gezeigt werden, daß die schraubig gewundenen Cytonemata im Ultradünnschnitt in verschiedenen Schnittebenen getroffen werden. Die scheinbar globulären Elemente, welche in Ultradünnschnitten im Cytoplasma anzutreffen sind, entsprechen den Schnittbildern durch die schraubig gewundenen Fäden (Cytonemata).

Abb. 1 gibt die nach Osmiumsäurefixation nachweisbaren schraubig gewundenen Cytonemata wieder. Auch Schnittbilder sind zu sehen.

## 2. Gemisch nach Altmann

Die Wurzeln wurden in Altmanns Gemisch, bestehend aus 2% Osmiumsäure und 5% Kaliumbichromatlösung zu jeweils gleichen Teilen,

<sup>1</sup> Da die Meßgenauigkeit bei elektronenmikroskopischen Aufnahmen die 10%-Grenze sicher nicht unterschreitet, so haben wir die aus mehreren hundert Messungen errechneten Mittelwerte auf ganze Zehner abgerundet.

Anmerkung: Alle Abbildungen dieser Arbeit beziehen sich auf Wurzelmeristemzellen von *Allium cepa*.

24 Std. lang fixiert. Die Wässerung erfolgte 24 Std. hindurch in Leitungswasser. Die Kontrastierung wurde konstant gehalten. (Uranylacetat 2%, 2 Std.)

Nach der Fixation mit Altmanns Gemisch konnte regelmäßig eine leichte, aber im Elektronenmikroskop durchaus deutliche Abhebung des Protoplasmas von der Membran beobachtet werden.

Die Abhebung war im Minimum etwa 540 Å und im Maximum 4300 Å. An den Orten, wo sich die Plasmodesmen befinden, war die Abhebung wesentlich geringer, so daß nicht alle Plasmodesmen zerrissen waren. Zwischen der Membran und dem abgehobenen Protoplasma waren elektronenmikroskopisch sehr feine Plasmafäden zu beobachten, welche nach Art der Hechtschen Fäden ausgezogen sind. Es handelt sich dabei um die zerstörte Plasmagrenzschicht. Das Cytoplasma ist im allgemeinen im Vergleich zu reiner Osmiumsäure gut erhalten. Die kleinen Vakuolen sind scharf begrenzt und wenig deformiert. Die Cytonemata sind, wie die Abb. 2 zeigt, in gleicher Menge und in wünschenswerter Deutlichkeit erhalten. Sie sind regelmäßig schraubig gewunden, neigen aber häufiger als in reiner Osmiumsäure zu einer Zusammenballung. Das kugulierte, kleinkomplexe Dispersionsmittel ist inhomogener als nach Fixation in reiner Osmiumsäure. Eine Vernetzungstendenz der langgestreckten Cytonemata ist zu bemerken. Die Fadenbreite der Cytonemata ergab sich auf Grund statistischer Messungen im Mittelwert in derselben Größenordnung wie bei Osmiumsäure. (Mittelwert der Fadenbreite 180 Å, min. 110 Å, max. 220 Å.) Der Schraubendurchmesser der Cytonemata war im Mittel 450 Å (380–550 Å), die Ganghöhe 270 Å (220–380 Å).

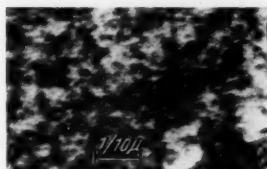


Abb. 2. Der Cytonemabau des Cytoplasmas nach Fixation in Altmanns Gemisch. Kontrastierung mit Uranylacetat. Näheres im Text. Primärvergrößerung 8800fach. Sekundärvergrößerung 71.000fach.

Die Chondriosomen sind gut erhalten. Sie besitzen eine doppelte Außenmembran und die für pflanzliche Chondriosomen charakteristische tubulöse Struktur. Die Golgiapparate sind ausgezeichnet beobachtbar. Auch die Randvakuolen derselben sind zu sehen. Ihr lamellärer Feinbau ist deutlich.

### 3. Gemisch nach Kopsch-Regaud

Die Fixierung erfolgte 24 Std. lang im Gemisch nach Kopsch-Regaud (80 cm<sup>3</sup> 3% Kaliumbichromat + 20 cm<sup>3</sup> Formol 40%). Die Wässerung dauerte in Leitungswasser 2 Std. Die Kontrastierung wurde wie bei allen diesen Versuchen mit Uranylacetat 2% 2 Std. lang durchgeführt. Die Fixierungsdauer von 24 Std. muß unbedingt eingehalten werden. Fixationsversuche mit kurzfristigerer Dauer ergaben eine so schlechte Fixation, daß eine elektronenmikroskopische Beurteilung schon sehr erschwert war.

Als auffallendes Charakteristikum der Fixation mit dem Gemisch nach Kopsch-Regaud fanden wir ein fast völliges Ausbleiben der Abhe-

bung des Protoplasten von der Membran. Abb. 3 gibt ein Übersichtsbild von einer Wurzelmeristemzelle bei schwächerer Vergrößerung. Die Abhebung, welche immer ein Zeichen für schlechte Fixation ist, ist so gering, daß sie sich nur stellenweise in sublichtmikroskopischen Dimensionen (um 500 Å) bemerkbar macht. Manchmal unterbleibt auch diese geringste Abhebung vollständig. Die Plasmodesmen (vgl. Strugger 1957 d) sind sehr gut und typisch erhalten. Das Cytoplasma macht einen wohl erhaltenen Eindruck. Die Cytonemata sind in allen erdenklichen Schnittbildern in gleicher Weise beobachtbar, wie nach der Fixation mit reiner Osmiumsäure. Gegenüber

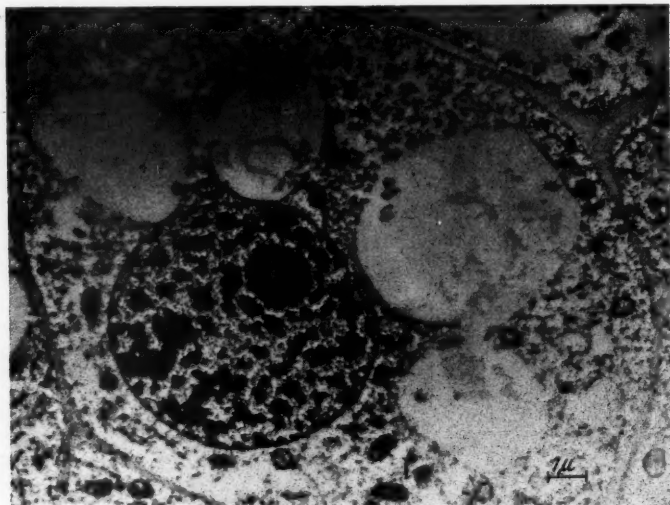


Abb. 3. Übersichtsbild einer Meristemzelle, fixiert mit dem Gemisch nach Kopsch-Regaud, kontrastiert mit Uranylacetat. Die starke Kontrastierung des Chromatins im Zellkern mit Uranylacetat ist deutlich zu erkennen. Näheres im Text. Primärvergrößerung 2600fach, Sekundärvergrößerung 6200fach.

der reinen Osmiumsäurefixation ergibt sich aber in allen untersuchten Präparaten ein grundsätzlicher Unterschied. Die Cytonemata neigen zu einer netzigen Aggregation, so daß ein Reticulum im Cytoplasma entsteht, welches sublichtmikroskopisch dimensioniert ist.

Im Mittel beträgt die so entstehende Maschenweite im Minimum 700 Å und im Maximum 2400 Å. Auch hier sind die vernetzten Cytonemata in ein Dispersionsmittel eingelagert, welches deutlich flockig koaguliert ist und selbst ein strukturell nicht auflösbares, sehr feinnetziges Grundgel im Cytoplasma bildet. Es kann kein Zweifel darüber bestehen, daß die Koagulate im Dispersionsmittel artifizierlicher Natur sind. Auch die gegenseitige Vernetzung der Cytonemata ist artifizierlicher Natur. Dagegen sind die Cytonemata trotz der chemisch grundsätzlichen Verschiedenheit des Fixations-

mittels im Vergleich zur Osmiumsäure in gleicher Weise erhalten. Ihre Dimensionen stimmen in der Größenordnung mit den in Osmiumsäure fixierten Material erhaltenen Werten gut überein.

Fadenbreite

Mittelwert: 160 Å, min.: 140 Å, max.: 200 Å,

Schraubendurchmesser

Mittelwert: 430 Å, min.: 330 Å, max.: 510 Å

Ganghöhe

Mittelwert: 310 Å, min.: 270 Å, max.: 340 Å

Die Abb. 4 zeigt bei stärkerer Vergrößerung das typische Bild der angeschnittenen Cytonemastruktur. Auch die Chondriosomen sind erhalten, doch ist die Zweischichtigkeit der Grenzschicht recht undeutlich, und auch die tubulöse Innenstruktur ist nicht mehr mit den Bildern, welche mit Osmiumsäurefixation erhalten werden, ohne weiteres vergleichbar (vgl. Abb. 4). Die Golgiapparate sind noch erhalten und an ihrem lamellenartigen Feinbau zu erkennen, ebenso die Doppellamellen.

#### 4. Gemisch nach Lewitzky

Die Fixation erfolgte im Gemisch nach Lewitzky (85 cm<sup>3</sup> 10% Formol + 15 cm<sup>3</sup> 1% Chromsäure). Die Fixationsdauer betrug 2 Std. Hiernach wurde 2 Std. gewässert. Die Kontrastierung blieb konstant (Uranylacetat 2% 2 Std.).

Auch im Lewitzky-Gemisch war die Abhebung des Protoplasten von der Membran sehr gering und bewegte sich im wesentlichen nur stellenweise in sublichtmikroskopischen Dimensionen. Die Plasmodesmen sind ausgezeichnet erhalten. Das Cytoplasma ist im Verhältnis zur Osmiumsäurefixation sehr substanzarm geworden. Die Cytonemata sind in den mannigfaltigsten Schnittbildern typisch erhalten, und an günstigen Stellen ist ihre schraubige Windung deutlich zu belegen. Sie sind gemeinsam mit dem relativ grob geflochtenen Dispersionsmittel so verklumpt, daß eine lockere reticuläre Gelstruktur mit einer Maschenweite von 540–5400 Å entstanden ist. Die Windungen der Cytonemata sind infolge der Einwirkung dieses Fixationsmittels im Vergleich zu den mit Osmiumsäure fixierten Präparaten häufig etwas deformiert. Ebenso sind derbere Zusammenballungen der

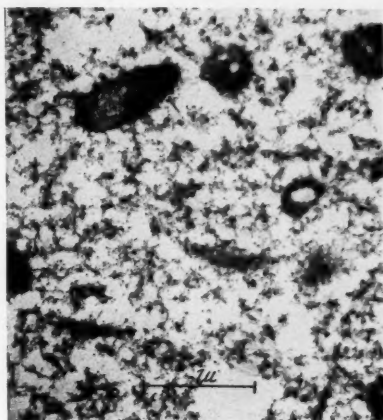


Abb. 4. Stärker vergrößerter Ausschnitt aus einer Zelle, welche mit dem Gemisch nach Kopsch-Regaud fixiert und mit Uranylacetat kontrastiert wurde. Die Vernetzung der Cytonemata ist deutlich zu sehen. Einige Chondriosomen sind getroffen. Näheres im Text. Primärvergrößerung 8800fach, Sekundärvergrößerung 18.000fach.

Cytonemata in den Knoten des entstandenen Plasmareticulums als artifizielle Bildungen zu beobachten. Das Dispersionsmittel des Cytoplasmas erscheint weitgehend herausgelöst. Fädige Überreste verbinden jedoch die Cytonemagruppen. Die Dimensionen der Cytonemata stimmen auch hier mit dem osmiumsäurefixierten Material gut überein.

#### Fadenbreite

Mittelwert: 190 Å, min.: 140 Å, max.: 270 Å

#### Schraubendurchmesser

Mittelwert: 500 Å, min.: 360 Å, max.: 560 Å

#### Ganghöhe

Mittelwert: 310 Å, min.: 250 Å, max.: 390 Å

Die Chondriosomen sind erkennbar erhalten, doch ist ihre Innenstruktur weitgehend verändert. Typische „Tubuli“ sind nur mehr andeutungsweise zu sehen.

Die Abb. 5 gibt ein charakteristisches Bild des Cytoplasmas wieder.

### 5. Formol

Die Fixation wurde in 4% Formol 24 Std. lang durchgeführt. Gewässert wurde 4 Std. Die Kontrastierung erfolgte, um bei diesem wichtigsten Fixationsmittel einen völligen Vergleich mit dem osmiumsäurefixierten Material zu erhalten, 4 Std. lang mit 1% Osmiumsäure und 4 Std. mit 2% Uranylacetat. Dazwischen wurde entsprechend gewässert.

Die Abhebung des Protoplasten von der Membran ist stellenweise stärker als nach Fixation mit Kopsch-Regaud und Lewitzky, aber an manchen Stellen hält sich auch hier die Abhebung in sehr geringen Grenzen.

(Mittelwert 990 Å, min. 60 Å, max. 1940 Å)

Dort, wo die Abhebung sehr gering ist, sind die sublichtmikroskopischen Plasmodesmen ausgezeichnet erhalten.

Das Cytoplasma ist in bezug auf seinen Cytonemabau typisch erhalten. Die Cytonemata erscheinen sehr distinkt und gleich deutlich wie nach Osmiumsäurefixation. Ihre schraubige Windung ist an den Ultradünnschnittaufnahmen sehr leicht nachzuweisen, wie die Abb. 6 zeigt. Die Dimensionen der Cytonemata sind folgende:

#### Fadenbreite

Mittelwert: 180 Å, min.: 120 Å, max.: 240 Å

#### Schraubendurchmesser

Mittelwert: 630 Å, min.: 410 Å, max.: 740 Å

#### Ganghöhe

Mittelwert: 270 Å, min.: 230 Å, max.: 310 Å

Sie stimmen also mit dem osmiumsäurefixierten Material größenordnungsmäßig gut überein. Die Cytonemata neigen nach Formolfixation zu einer Vernetzung; manchmal erscheinen sie auch klumpig gehäuft. Das fein



geflockte Dispersionsmittel ist in der unmittelbaren Umgebung der Cytonemata gerade noch beobachtbar. Im übrigen erscheinen die Zwischenräume recht leer.

Die äußere Plasmagrenzschicht ist scharf gezeichnet. Die Chondriosomen sind erhalten, aber ihre Innenstruktur ist gegenüber dem osmiumsäurefixierten Material weitgehend verändert. Die Doppelschichtigkeit der Chondriosomengrenzschicht ist nicht mehr deutlich beobachtbar. Auch der tubulöse Feinbau der Chondriosomen ist undeutlich geworden. Dafür sind fädige, stark elektronenstreuende Partikel in gewundener Form im Innern der Chondriosomen zu beobachten. Die Doppellamellen sind erhalten (endoplasmatisches Reticulum). Ebenso sind auch die lamellenartigen Golgiapparate noch deutlich erkennbar.

#### 6. Champy

Die Fixation der Wurzeln erfolgte im Gemisch nach Champy (4 cm<sup>3</sup> 2% Osmiumsäure + 7 cm<sup>3</sup> 3% Kaliumbichromat + 7 cm<sup>3</sup> 1% Chromsäure). Die Fixationsdauer betrug 24 Std. Gewässert wurde 2 Std. Die Kontrastierung erfolgte mit 2% Uranylacetat 2 Std.

Champy erwies sich für die Wurzelspitzen von *Allium cepa* als ein sehr schlechtes Fixiermittel. Die Abhebung des Protoplasten von der Membran war überaus störend, so daß die meisten Plasmodesmen gerissen sind

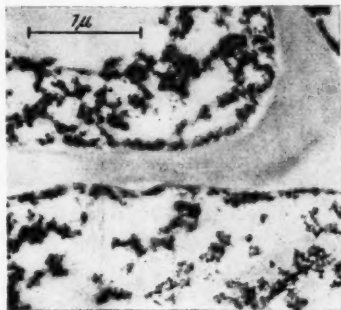


Abb. 5. Das Strukturbild des Cytoplasmas nach Fixation mit dem Gemisch von Lewitzky und nachfolgender Kontrastierung mit Uranylacetat. Näheres im Text. Primärvergrößerung 8800fach, Sekundärvergrößerung 18.000fach.

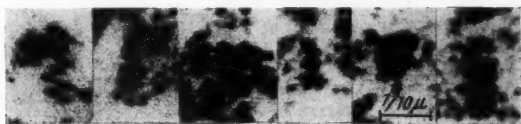


Abb. 6. Die sehr gute Erhaltung der Cytonemata nach Fixation in 4% Formol und Kontrastierung mit Osmiumsäure und Uranylacetat. Typische Schnittbilder sind zu sehen. Primärvergrößerung 8000fach, Sekundärvergrößerung 80.000fach.

und nur noch Teilreste der Plasmodesmen beobachtet werden konnten. Der Mittelwert der Abhebung betrug 6710 Å. Die Abhebung wäre so bereits lichtmikroskopisch deutlich bemerkbar.

Das Cytoplasma erleidet durch das Gemisch von Champy tiefgreifende Veränderungen. Die Cytonemata sind zwar als schraubig gewundene Fäden noch in allen Präparaten nachweisbar, sie sind jedoch stark ver-

quollen, so daß die Dimensionen der Cytonemata in bezug auf ihren Fadendurchmesser erheblich vergrößert sind. Der Mittelwert der Fadenbreite beträgt 260 Å, min.: 170 Å, max.: 400 Å. Die schraubig gewundenen Cytonemafäden sind in ihren Windungen deformiert, so daß auch beinahe gestreckte, nur noch leicht wellig verlaufende Cytonemata vorkommen. Es war daher nicht sinnvoll, den Schraubendurchmesser oder die Ganghöhe statistisch zu bestimmen. Eine Verklumpung der Cytonemata zu dichteren Knäueln kommt regelmäßig vor, wodurch die grob brockige Struktur des Cytoplasma nach der Fixation nach Champy ihre Erklärung findet.

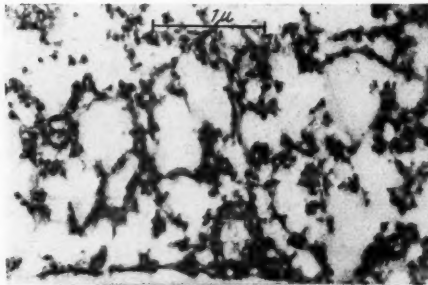


Abb. 7. Der Strukturaspekt des Cytoplasmas nach Fixation mit dem Gemisch nach Champy und Kontrastierung mit Uranylacetat. Ein Chondriosom ist gerade noch erkennbar. Näheres im Text. Primärvergrößerung 8800fach, Sekundärvergrößerung 18.000fach.

Zweifellos sind die Cytonemata auch nach dieser relativ schlechten Fixation noch nachweisbar, aber für die Darstellung der Cytonemata ist bei dem vorliegenden Objekt die Fixation nach Champy ungeeignet.

Die Chondriosomen sind erkennbar. Die doppelte Grenzschicht derselben ist aber undeutlich. Die „Tubuli“ erscheinen stark aufgebläht und vakuolenähnlich. Das Innere der Chondriosomen macht den Eindruck, als ob es von gewundenen, stark elektronenstreuenden Fäden durchzogen wäre. Golgiapparate wurden

festgestellt, während die Doppellamellen nur mehr undeutlich erkennbar sind. Abb. 7 gibt einen Einblick in diese Verhältnisse.

#### 7. Alkohol-Formol

Die Fixation erfolgte in einem Gemisch aus zwei Teilen 90% Alkohol und einem Teil 40% Formol. Die Fixationsdauer betrug 24 Std. Gewässert wurde 2 Std. Die Kontrastierung erfolgte mit Uranylacetat 2% 2 Std. Die Abhebung des Protoplasten von der Membran ist auf weite Strecken hin sehr stark. Mittelwert 5250 Å. Die Plasmodesmen sind daher schlecht erhalten und nur in den seltensten Fällen noch zu bemerken. Das Cytoplasma ist nicht sehr kompakt erhalten. Die Cytonemata sind als schraubig gewundene Fäden zu sehen, aber sie sind etwas deformiert, vernetzt und verklumpt.

Die Fadenbreite konnte im Mittelwert mit 250 Å (min.: 190 Å, max.: 340 Å) bestimmt werden. Sie sind also größer als nach Osmiumsäurefixation. Eine Ausmessung des Schraubendurchmessers und der Ganghöhe erschien wegen der deutlichen Deformierung nicht zweckmäßig. Eine Verquellung der Cytonemata ist gegenüber Osmiumsäure also feststellbar. Das Dispersionsmittel des Cytoplasmas ist flockig koaguliert und bildet ein relativ

zartes Netzwerk, in welches die zusammengeballten Cytonemata eingebettet sind. Große leere Räume sind jedoch infolge der Innendeformation häufig zu beobachten.

Die Chondriosomen sind nur mehr in undeutlich erkennbaren Resten erhalten. Ihre Struktur ist weitgehend zerstört, so daß zur Darstellung der Chondriosomen das Alkohol-Formolgemisch nicht geeignet erscheint. Die Doppellamellen und die Golgiapparate sind nicht mehr nachweisbar.

#### 8. Gemisch nach Rabl

Um die Wirkung von Schwermetallsalzen zu prüfen, wurde auch das Gemisch von Rabl in die Versuchsreihe einbezogen. Es besteht aus  $10\text{ cm}^3$

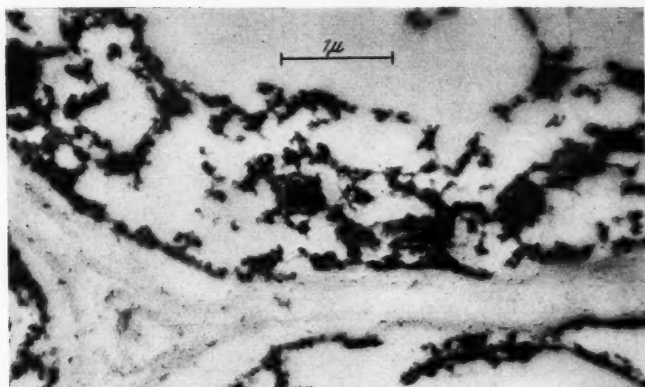


Abb. 8. Das Strukturbild des Cytoplasmas nach Fixation mit dem Gemisch nach Rabl. Näheres im Text. Primärvergrößerung 8800fach, Sekundärvergrößerung 18.000fach.

1% wässriger Platinchloridlösung +  $10\text{ cm}^3$  gesättigter, wässriger Sublimatlösung +  $20\text{ cm}^3$  aqua dest. Die Fixationsdauer betrug 24 Std. Gewässert wurde 14 Std. Die Kontrastierung wurde mit Uranylacetat 2% 2 Std. lang durchgeführt. Dann wurde 2 Std. gewässert

Die Abhebung des Protoplasten von der Membran ist wechselnd — bei manchen Präparaten minimal, bei manchen stärker (550—7780 Å). Im Cytoplasma sind die Cytonemata an günstigen Stellen noch erkennbar. Die schraubigen Windungen sind zwar noch nachweisbar aber unregelmäßig geworden. Auch weitgehend entrollte Cytonemata sind zu sehen. Das Dispersionsmittel des Cytoplasmas ist sehr grob geflockt, so daß die Cytonemata mit dem geflockten Dispersionsmittel starke Verklumpungen und Zusammenballungen zeigen. Dazwischen sind große, leere Lakunen im Cytoplasma (Abb. 8). Auch die Cytonemata sind stark aufgequollen und in ihrer Innenstruktur weitgehend aufgelockert. Die mittlere Fadenbreite beträgt 350 Å, min.: 220 Å, max.: 440 Å.

Die Chondriosomen sind nur andeutungsweise als Inhaltskörper erhalten.

ten. Da ihre Struktur weitgehend verändert ist (Tubuli nicht sichtbar, doppelte, äußere Grenzschicht nicht mehr erkennbar), ist ihre eindeutige Bestimmung gegenüber den anderen Zellorganellen nicht mehr durchführbar. Weder Doppellamellen noch Golgiapparate konnten aufgefunden werden.

### 9. Essigsäurehaltige Fixiermittel

Da es sich herausgestellt hat, daß alle Fixationsmittel, welche Essigsäure enthalten, für die Fixation des Cytoplasmas zum Zwecke elektronenmikroskopischer Untersuchungen sich als gänzlich ungeeignet erwiesen haben und die Innendeformation des Cytoplasmas bei allen essigsäurehaltigen Fixiermitteln gleich ist, sind die essigsäurehaltigen Fixiermittel zusammenfassend besprochen, um Wiederholungen zu vermeiden.

Unter den zahlreichen Fixiermitteln, welche Essigsäure enthalten, wurden folgende ausgewählt:

Gemisch nach *Flemming*, bestehend aus 15 cm<sup>3</sup> 1% Chromsäure + 4 cm<sup>3</sup> 2% Osmiumsäure + 1 cm<sup>3</sup> Eisessig. Die Fixationsdauer betrug 24 Std., die Wässerung ebenfalls 24 Std.

Gemisch nach *Bouin*, bestehend aus 15 cm<sup>3</sup> gesättigter, wässriger Pikrinsäure + 5 cm<sup>3</sup> Formalin 40% + 1 cm<sup>3</sup> Eisessig. Es wurde 14 Std. lang fixiert und hernach nach Vorschrift 2 Std. in 70% Alkohol, dann je 1/4 Std. in 60%, 40% und 20% Alkohol und aqua dest. ausgewaschen.

Gemisch nach *Carnoy*, bestehend aus 30 cm<sup>3</sup> Chloroform + 60 cm<sup>3</sup> absolutem Alkohol + 10 cm<sup>3</sup> Eisessig. Die Fixationsdauer betrug 1 Std., dann wurde nach Vorschrift je 10 Min. in 40% und 20% Alkohol ausgewaschen und 30 Min. gewässert.

Gemisch nach *Tellyesniczky*, bestehend aus 100 cm<sup>3</sup> 3% Kaliumbichromat + 5 cm<sup>3</sup> Essigsäure 96%. Es wurde 2 Std. lang fixiert, ebenso 2 Std. lang gewässert.

Die Kontrastierung wurde in jedem Falle mit Uranylacetat 2% 2 Std. lang nach erfolgter Wässerung durchgeführt und dann noch 2 Std. in Leitungswasser ausgewaschen.

Das Fixationsgemisch nach *Flemming* bewirkte die geringste Abhebung des Protoplasten von der Membran (540—4610 Å). Häufig konnte nur eine minimale, im sublichtmikroskopischen Bereich sich bewegende Abhebung festgestellt werden.

Dementsprechend sind nach Fixation mit dem Gemisch nach *Flemming* die Plasmodiesmen noch relativ häufig erhalten, doch ist dieses Gemisch im Vergleich zur Osmiumsäure für die Darstellung der Plasmodiesmen nicht empfehlenswert.

Im Fixationsgemisch nach *Bouin*, *Carnoy* und *Tellyesniczky* ist die Abhebung des Protoplasten von der Membran wesentlich größer und erreicht in jedem Falle lichtmikroskopische Dimensionen. Nur bei dem Gemisch nach *Tellyesniczky* war die Abhebung im allgemeinen etwas geringer. Daher sind diese Fixationsgemische zur Darstellung der Plasmodiesmen gänzlich ungeeignet. Das Cytoplasma ist in allen essigsäurehaltigen Fixierungsmitteln zu einer spongiosen, locker gelagerten, stark

elektronenstreuenden Masse deformiert. Große, leere Lakunen treten regelmäßig im Cytoplasma auf, so daß man den Eindruck einer auffallenden Substanzarmut im Vergleich zum osmiumsäurefixierten Material erhält. Eine nähere Analyse läßt erkennen, daß die Cytonemata stark verquollen und miteinander zu brockigen Massen fusioniert sind. An sehr scharf fokussierten Aufnahmen kann man die Existenz der Cytonemata noch erkennen. Sie sind undeutlich gewordene Reste von schraubig gewundenen Fäden, welche stark verquollen erscheinen. Die Fadenbreite beträgt im Mittel 400 Å, im Minimum 340 Å und im Maximum 510 Å.

Die Innenstruktur der Cytonemafäden ist aufgelockert (vgl. Seite 624) und sehr verdeutlicht, so daß an der Existenz der Cytonemata kein Zweifel

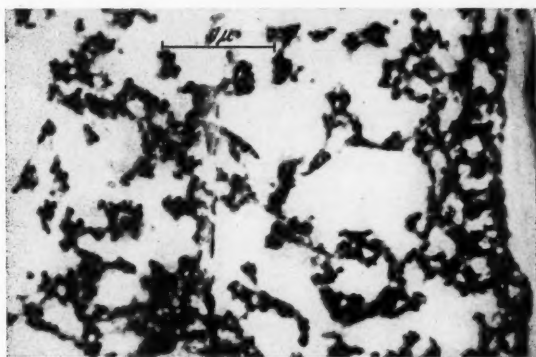


Abb. 9. Der Strukturaspekt des Cytoplasmas nach Fixation mit dem essigsäurehaltigen Gemisch nach Carnoy und Kontrastierung mit Uranylacetat. Näheres im Text. Primärvergrößerung 8800fach, Sekundärvergrößerung 18.000fach.

bestehen kann. Für eine klare Darstellung der Cytonemata ist jedoch die Reihe der essigsäurehaltigen Fixationsmittel durchgehend ungeeignet, da wahrscheinlich die Essigsäure durch ihre hydrolysierende und quellende Wirkung eine weitgehende Zerstörungsarbeit geleistet hat.

Die Abb. 9 belegt den Aspekt der Feinstruktur des Cytoplasmas nach Fixation mit essigsäurehaltigen Fixierungsgemischen.

Die Deformation der Cytoplasmakonfiguration ist so weitgehend, daß von der ursprünglichen Strukturordnung in den Zellen wenig übrig geblieben ist. Die Chondriosomen sind in keinem Falle so erhalten, daß man sie erkennen könnte. Im günstigsten Falle sind Überreste derselben erkennbar. Auch die Golgiapparate und die Doppellamellen (endoplasmatisches Reticulum) sind nicht erhalten. Die Anordnung der Vakuolen und der Mikrovakuolen ist nicht mehr erkennbar.

Zusammenfassend kann für die Wirkung verschiedener Fixationsmittel auf die Feinstruktur des Plasmas festgestellt werden, daß essigsäurehaltige Fixierungsgemische quellend und daher strukturvergrößernd wirken. Die Untersuchungen von Bretschneider (1950) zu diesem Problem ergaben

ähnliche Resultate. Bretschneider deutete zwar noch die Struktur des Plasmas als Netzwerk im Sinne der Haftpunkttheorie Frey-Wysslings. Bretschneider berichtet jedoch auch, daß Osmiumsäure, Formol, Kaliumbichromat die „kleinste Teilchengröße im Plasma erzeugen“, essigsäurehaltige Fixiergemische dagegen die „Grundnetzstruktur des Plasmas“ grob verändern. Die eigenen Versuchsergebnisse zeigten eindeutig, daß vom Gebrauch essigsäurehaltiger Fixationsmittel für die Elektronenmikroskopie abzusehen ist.

## II. Untersuchungen mit verschiedener Kontrastierung bei gleichbleibender Fixation

Im Hinblick auf die Bedenken, welche Menke (1957) geäußert hat, war es notwendig, planmäßige Untersuchungen an den Meristemzellen der Wurzelspitzen von *Allium cepa* bei konstanter Fixierung und wechselnder, nachfolgender Kontrastierung durchzuführen. Bei der Wahl des Fixierungsmittels mußte naturgemäß von einem osmiumsäurefreien Fixierungsmittel ausgegangen werden. So konnte die Frage eines eventuellen Einflusses der Kontrastierungsmittel auf den Strukturaspekt des Cytoplasmas entschieden werden.

Die Erfahrungen, welche mit verschiedenen Fixiergemischen gewonnen wurden, ließen die Wahl für das in dieser Versuchsreihe konstant gehaltene Fixiermittel auf das Gemisch von Kopsch-Regaud fallen, weil bei Anwendung dieses Gemisches die Cytonemata bei einer Fixationsdauer von 24 Std. im Vergleich zu dem osmiumsäurefixierten Material sehr gut erhalten sind und lediglich eine Vernetzung der Cytonemata als zusätzliches Artefakt beobachtet werden konnte.

Die Auswahl der Kontrastierungsmittel erfolgte nach praktischen und theoretischen Gesichtspunkten. Da innerhalb aller elektronenmikroskopischen Arbeiten, welche bisher in der Weltliteratur erschienen sind, die Osmiumsäure bei ihrer gleichzeitigen Fixationswirkung auch als Kontrastierungsmittel allgemein Anwendung findet, wurde sie selbstverständlich vergleichend geprüft. Fernerhin wurde die von Strugger (1956) angewendete Kontrastierung mit Osmiumsäure und Uranylacetat angewandt.

Es wurden noch Kontrastierungsmittel ausgewählt, welche vom chemischen Gesichtspunkte aus eine Bildung sublichtmikroskopischer, artifizieller Komplexe nicht bewirken können. Eine komplexe Wismutverbindung wurde uns zu diesem Zwecke vom anorganisch-chemischen Institut der Universität Münster angefertigt. Wir sagen den Herren Prof. Dr. Klemm und Prof. Dr. Schäfer für ihre Unterstützung herzlichen Dank.

Fernerhin wurde aus den gleichen theoretischen Gründen der Versuch unternommen, mit einer 5% wässrigen Cesiumchloridlösung zu kontrastieren, und schließlich wurde nur nach Fixation mit Kopsch-Regaud ohne nachträgliche Kontrastierung gearbeitet. Bei dieser Versuchsreihe konnte nur das Kaliumbichromat eine Kontrastwirkung erzielen.



Die Fixation der Wurzelspitzen wurde mit dem Gemisch nach Kopsch-Regaud 24 Std. (80 cm<sup>3</sup> Kaliumbichromat 3% + 20 cm<sup>3</sup> Formalin 40%) durchgeführt. Gewässert wurde in Leitungswasser 2 Std.

1. Kontrastierung mit Osmiumsäure.

Mit Veronal gepufferte Osmiumsäurelösung (1%) wurde nach der Wässerung 4 Std. lang einwirken gelassen, hierauf wurden die Wurzeln 4 Std. gewässert und eingebettet.

2. Kontrastierung mit Uranylacetat.

2% wäßrige Uranylacetatlösung (pH 4) wurde 4 Std. auf die Wurzeln einwirken gelassen. Die nachträgliche Wässerung in Leitungswasser dauerte 4 Std.

Fixation	Kontrastierung	Fadenbreite der Cytoneмата in Å			Schraubendurchmesser der Cytoneмата in Å		
		Mittelwert	Min.	Max.	Mittelwert	Min.	Max.
Kopsch-Regaud	OsO <sub>4</sub>	170	120	230	520	410	730
Kopsch-Regaud	Uranylacetat	180	130	230	540	440	730
Kopsch-Regaud	OsO <sub>4</sub> + Uranylacetat	180	120	240	480	350	590
Kopsch-Regaud	Wismut	170	120	230	510	400	700
Kopsch-Regaud	CsCl	180	120	240	540	410	620
Kopsch-Regaud	Cr	160	120	210	600	470	800

5. Kontrastierung mit Osmiumsäure + Uranylacetat.

4 Std. lang wurde mit mit Veronal gepufferter Osmiumsäure (1%) behandelt. Hierauf 4 Std. gewässert. Dann wurde 4 Std. lang mit 2% wäßriger Uranylacetatlösung (pH 4) nachkontrastiert und wiederum 4 Std. gewässert.

4. Kontrastierung mit der Wismutverbindung.

4 Std. lang wurde mit der Wismutlösung (pH 6,6) behandelt. Die Wässerung erfolgte in Leitungswasser 4 Std. lang.

Zusammensetzung der Wismutlösung:

110 mg Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> · 5H<sub>2</sub>O werden in etwa 5 cm<sup>3</sup> 2n HNO<sub>3</sub> warm gelöst. Die Lösung wird mit Wasser verdünnt, mit 90 mg Komplexon III (Dinatriumsalz der Äthylendiamin-Tetraessigsäure, C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O<sub>8</sub>N<sub>2</sub>Na<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O) und 2,05 g Natriumcitrat (Na<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> · 5,5H<sub>2</sub>O) versetzt und schließlich mit Wasser auf 100 cm<sup>3</sup> aufgefüllt. Sie hat einen pH-Wert von etwa 4,5 und kann durch Zutropfen von verdünnter NaOH auf den gewünschten pH-Wert, z. B. auf pH 6, gebracht werden. Das Wismut ist als Komplex in der Lösung enthalten.

5. Kontrastierung mit Caesiumchlorid.

Die Wurzeln wurden 4 Std. lang mit einer 5% Caesiumchloridlösung (pH 6) in Leitungswasser behandelt. Hierauf wurde in Leitungswasser 4 Std. gewässert.

#### 6. Kontrastierung mit Kaliumbichromat.

Es wurde die 24stündige Fixation im Gemisch von Kopsch-Regaud als gleichzeitige Kontrastierung angesehen. Die Wässerung erfolgte 2 Std.

Über diese Versuchsreihen kann wegen der Einheitlichkeit der Ergebnisse zusammenfassend berichtet werden. Die elektronenmikroskopische Analyse der Ultradünnschnitte zeigte eindeutig, daß die Cytonemata in ihrer charakteristischen geschraubten Gestalt und in ihren Dimensionen unabhängig vom angewandten Kontrastierungsmittel im Cytoplasma beobachtet werden können. Die Tab. 1 belegt die gemessenen Werte.

Unabhängig von der chemischen Natur des Kontrastierungsmittels haben die Dimensionen der Cytonemata die gleiche Größenordnung, wie sie von Strugger (1957) anlässlich der ersten Beschreibung der Cytonemata angegeben wurden.

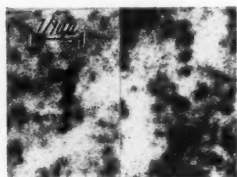


Abb. 10.

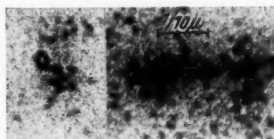


Abb. 11.

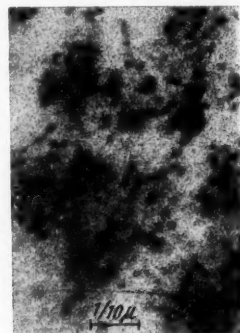


Abb. 12.

Abb. 10. Das Strukturbild des Cytoplasmas nach Fixation mit dem Gemisch nach Kopsch-Regaud und nachfolgender Kontrastierung mit Osmiumsäure. Die Cytonemata sind deutlich zu sehen. Primärvergrößerung 8000fach, Sekundärvergrößerung 79.500fach.

Abb. 11. Das Strukturbild des Cytoplasmas nach Fixation mit dem Gemisch nach Kopsch-Regaud und nachfolgender Kontrastierung mit Caesiumchlorid. Die Schnittbilder durch die Cytonemata sind deutlich beobachtbar. Primärvergrößerung 8000fach, Sekundärvergrößerung 79.500fach.

Abb. 12. Das Strukturbild des Cytoplasmas nach Fixation mit dem Gemisch nach Kopsch-Regaud ohne weitere Kontrastierung. Die Cytonemata sind auch ohne Osmiumsäure- und Uranylacetat-Kontrastierung deutlich zu erkennen. Primärvergrößerung 8000fach, Sekundärvergrößerung 79.000fach.

Es besteht sonach kein Zweifel, daß die Cytonemaschrauben in ihrer Darstellbarkeit nicht vom jeweilig angewandten Kontrastierungsmittel abhängen. Sogar bei bloßer Fixation im Gemisch von Kopsch-Regaud sind sie durch die kontrastierende Wirkung des Kaliumbichromats in gleicher Weise zu beobachten wie nach Kontrastierung mit der von Menke (1957) verdächtigten Osmiumsäure und dem von Menke auf Artefaktstrukturbildung angesprochenen Uranylacetat. Damit ist wohl der Einwand Menkes an dem Objekt, an welchem die Cytonemata von Strugger (1956, 1957) beschrieben wurden, widerlegt. Es wäre noch einiges über die verschiedenartige Kontrastwirkung, hervorgerufen durch die jeweiligen

Kontrastierungsmittel, zu sagen. Da Messungen nicht vorgenommen werden konnten, soll nur der subjektive Eindruck kurz mitgeteilt werden. Die stärkste Elektronenstreuung lieferten die Cytonemata nach kombinierter Kontrastierung mit Osmiumsäure und Uranylacetat. Hiernach folgen die Kontrastierung mit Osmiumsäure, die Kontrastierung mit Uranylacetat und dann die Kontrastierung mit der Wismutverbindung, Caesiumchlorid und Kaliumbichromat.

Die Abb. 10–12 belegen diese Befunde.

### III. Beobachtungen über die Feinstruktur der Cytonemata

Das umfangreiche elektronenmikroskopische Aufnahmematerial von Ultradünnschnitten durch das Cytoplasma der Wurzelmeristemzellen von *Allium cepa*, welches unter verschiedenen Fixations- und Kontrastierungsbedingungen gewonnen wurde, bot bei allen gut fokussierten Aufnahmen die Gelegenheit, den Feinbau der schraubig gewundenen Cytonemafäden vergleichend zu untersuchen. Da ein Cytonemafaden einen mittleren Durchmesser von 150–180 Å hat, so sind die zu erwartenden Dimensionen seiner Feinbauelemente bereits unterhalb der kritischen Beurteilungsgrenze elektronenmikroskopischer Aufnahmen an biologischen Objekten gelegen. Es ist nach dem derzeitigen Stand der elektronenmikroskopischen Untersuchungen an Ultradünnschnitten schon unsicher, Strukturelemente, welche kleiner als 50 Å sind, mit Sicherheit zu beurteilen. Außerdem können innerhalb solcher Dimensionen Artefaktstrukturen, hervorgerufen durch die Fixation und Kontrastierung, leicht auftreten.

Wenn wir trotzdem den Versuch unternommen haben, das Aufnahmematerial im Hinblick auf die in den Cytonemafäden beobachtbaren Struktureinheiten auszuwerten, so wurden wir durch die erstaunliche Übereinstimmung der beobachtbaren Strukturbilder nach verschiedener Fixation und verschiedener Kontrastierung überzeugt, daß es lohnend sei, das Beobachtete kurz mitzuteilen. Es kann auf Grund aller Bedenken, welche noch erhoben werden müssen, noch nicht entschieden werden, ob die beschreibbare Innenstruktur der Cytonemata der vitalen Wirklichkeit entspricht. Wir möchten daher diese kurze Darstellung nur als eine anregende und vorläufige Beschreibung verstanden wissen.

Da in den Ultradünnschnittbildern die schraubig gewundenen Cytonemata in beliebigen Ebenen beobachtet werden können, so ließ sich die innere Struktur der Cytonemata an Querschnitten und an Fadenlängsschnitten untersuchen. Die Cytonemaquerschnitte zeigen die in Abb. 13 a wiedergegebenen Bilder. Jedes Cytonema besteht aus einer schwächer elektronenstreuenden Grundsubstanz, in welcher im Querschnittsbild 1–2 punktförmig erscheinende, stark elektronenstreuende Strukturelemente sehr scharf begrenzt zu sehen sind. Sie liegen häufig in der Grundmasse etwas exzentrisch eingelagert. Es kommt an Querschnittbildern auch vor, daß halbringförmige, stark elektronenstreuende Fadenstücke im Innern zu sehen sind (vgl. Abb. 13 a). Schon die Analyse der Querschnittsbilder erbrachte die Wahrscheinlichkeit, daß jeder Cytonemafaden aus einer

schwächer elektronenstreuenden Grundsubstanz besteht, in welche in der Nähe der Peripherie stark elektronenstreuende, wiederum schraubig gewundene Fäden in der Ein- oder Zweizahl eingelagert sind. Mit Uranylacetat lassen sich diese schraubig gewundenen Subfadenelemente besonders kontrastreich darstellen.

In der Seitenansicht ist unabhängig von der Fixation und unabhängig von der Kontrastierung die schwach elektronenstreuende Grundsubstanz des Fadens deutlich sichtbar, und in allen Präparaten konnte ein System stark elektronenstreuender, dicht schraubig gewundener Subfäden im Innern beobachtet werden. Wie die Abb. 13 b und 14 zeigen, erfüllen die



Abb. 13.

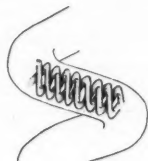


Abb. 14.

Abb. 13. Die in allen gut fokussierten Aufnahmen zu beobachtenden Struktureinheiten in den Cytonemafäden. a vier Querschnittsbilder, b eine Seitenansicht. Näheres im Text.

Abb. 14. Schematische Zeichnung des zu beobachtenden Feinbaus der Cytonemata. In einer schwächer uranophilen Grundsubstanz sind schraubig gewundene Fäden eingebettet, welche stark uranophil sind.

schraubig gewundenen, stark elektronenstreuenden Subfäden die innere Partie des Cytonemafadens, so daß noch ein schmaler Mantel der schwach elektronenstreuenden Grundsubstanz an der Peripherie zu bemerken ist. Der eine von uns (Strugger 1957 a) konnte bereits über die Feinstruktur der Cytonemata berichten, daß sie einen stark uranophilen Docht und einen schwächer uranophilen Mantel besitzen. Schon damals wurde die Möglichkeit ausgesprochen, daß auch die Cytonemata eine untergeordnete schraubige Feinstruktur haben. Über die Dimensionen dieser Bauelemente der Cytonemata können naturgemäß nur geschätzte Werte angegeben werden. Der Durchmesser der schraubig gewundenen Subfäden dürfte zwischen 30 und 40 Å betragen. Der Durchmesser der Subschrauben, welche den stark uranophilen Docht bilden, beträgt rund 140 Å. Die Ganghöhe bewegt sich zwischen 60 und 120 Å. Die Zahl der schraubig gewundenen Subfäden in den Cytonemata ist sehr schwer bestimmbar. Die Einzahl und Zweizahl scheinen am häufigsten vorzukommen. Ob mehr als zwei Subfäden durch schraubige Aufwindung den Docht bilden können, muß unentschieden bleiben.

### Zusammenfassung der Ergebnisse

1. An den Wurzelmeristemzellen von *Allium cepa* wurde bei verschiedener Fixation und konstant bleibender Kontrastierung die Frage geprüft, ob die von Strugger (1956, 1957) nach Osmiumsäure-Fixation und

Uranylacetatkontrastierung aufgefundenen schraubig gewundenen Cytonemafäden im Cytoplasma unabhängig vom Fixationsmittel erhalten bleiben. Folgende Fixationsmittel erlauben im Ultradünnschnitt nach Kontrastierung mit Osmiumsäure oder Uranylacetat die Feststellung schraubig gewundener Cytonemata:

Osmiumsäure, Gemisch nach Altmann, Gemisch nach Kopsch-Regaud, Gemisch nach Lewitzki und 4% Formol.

Auf Grund dieser Feststellung kann gesagt werden, daß chemisch sehr heterogene Fixationsmittel dasselbe Strukturbild ergeben. Infolgedessen ist es unwahrscheinlich, daß die Cytonemata Fixierungsartefakte sind. Es ist lediglich der Grad ihrer gegenseitigen Vernetzung durch die o. g. Fixationsmittel verschieden beeinflusst, selbst ihre Feinstruktur bleibt konstant.

Die Fixationsmittel: Gemisch nach Champy, Alkohol-Formol, Gemisch nach Rabl deformieren die Cytonemata des Cytoplasmas sehr stark, doch ist an ihrer Existenz auch nach Fixation mit diesen Gemischen nicht zu zweifeln.

Alle essigsäurehaltigen Fixationsgemische sind zur Darstellung der Cytonemastruktur des Cytoplasmas ungeeignet. Es wurden die Gemische nach Flemming, Bouin, Carnoy und Tellyesniczky geprüft. Die Cytonemata sind zwar noch nachweisbar, aber sie verquellen stark und verklumpen untereinander, so daß von einer Erhaltung der Cytoplasma-Feinstruktur nicht die Rede sein kann. Fixationsmittel, welche Essigsäure enthalten, sind für die Elektronenmikroskopie daher gänzlich ungeeignet. Es werden auch andere Strukturelemente wie die Chondriosomen und die Golgiapparate völlig zerstört.

2. Die Fixation der Wurzelspitzen von *Allium cepa* mit dem Gemisch nach Kopsch-Regaud wurde ausgenutzt, um das Strukturbild des Cytoplasmas nach Kontrastierung mit Osmiumsäure, Uranylacetat, einer Wismutverbindung, Caesiumchlorid und mit dem Kaliumbichromat des Fixationsmittels zu untersuchen. Das Ergebnis war eindeutig. In jeder Versuchsreihe konnten die schraubig gewundenen Cytonemata in der gleichen Größenordnung als disperse Phase des Cytoplasmas aufgefunden werden.

3. Demnach sind die theoretischen Einwände von Menke (1957) in bezug auf die von mir (1956, 1957) beschriebenen Cytonemata im Cytoplasma experimentell widerlegt. Eine Deutung der schraubig gewundenen Cytonemata als artificielle Kolloidteilchen, welche durch die Osmiumsäure- oder Uranylacetatkontrastierung entstanden sind, kann mit Sicherheit als ausgeschlossen betrachtet werden.

4. Unabhängig von der Fixation und unabhängig von der Art der Kontrastierung konnte beobachtet werden, daß jeder Cytonemafaden aus einer schwächer elektronenstreuenden Grundsubstanz und aus stark elektronenstreuenden, schraubig gewundenen Subfäden besteht.

#### Literatur

- Bretschneider, L. H., 1950: Elektronenmikroskopische Untersuchung der Pflanzenzellen (Einfluß verschiedener Fixationsflüssigkeiten auf die Zelle). Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch. Amsterdam 53, 1476.

- Lund, H. A., A. E. Vatter, and J. B. Hanson, 1958: Biochemical and cytological changes accompanying growth and differentiation in the roots of *Zea mays*. J. Biophys. a. Biochem. Cytology **4**, 87.
- Menke, W., 1957: Artefakte in elektronenmikroskopischen Präparaten. II. Mitteilung: Zur Fixierung von Chloroplasten mit Osmiumtetroxyd. Z. Naturforsch. **12 b**, 656.
- 1957: III. Mitteilung: Zur Kontrastierung mit Uranylacetat. Z. Naturforsch. **12 b**, 659.
- Palade, G. E., 1955: A small particulate component of the cytoplasm. J. Biophys. a. Biochem. Cytology **1**, 59.
- Perner, E. S., 1957: Zum elektronenmikroskopischen Nachweis des „Golgi-Apparates“ in Zellen höherer Pflanzen. Naturw. **44**, 336.
- Rouillier, Ch., et E. Fauré-Fremiet, 1958: Structure fine d'un flagellé chrysomonadien: *Chromulina psammobia*. Exper. Cell Res. **14**, 47.
- Strugger, S., 1956a: Die Uranylacetat-Kontrastierung für die elektronenmikroskopische Untersuchung von Pflanzenzellen. Naturw. **43**, 357.
- 1956b: Schraubig gewundene Fäden als sublichtmikroskopische Bauelemente des Cytoplasmas. Naturw. **43**, 451.
- 1957a: Schraubig gewundene Fäden als sublichtmikroskopische Strukturelemente des Cytoplasmas. Ber. dtsh. bot. Ges. **LXX**, 91.
- 1957b: Die sublichtmikroskopische Struktur des Cytoplasmas bei verschiedener Fixation. Naturw. **44**, 1.
- 1957c: Die sublichtmikroskopische Struktur des Cytoplasmas im latenten Lebenszustand. Naturw. **44**, 596.
- 1957d: Der elektronenmikroskopische Nachweis von Plasmodesmen mit Hilfe der Uranylimprägnierung an Wurzelmeristemen. Protoplasma **48**, 231.
- 1957e: Elektronenmikroskopische Beobachtungen über die Teilung der Proplastiden im Urmeristem der Wurzelspitze von *Allium cepa*. Z. Naturforsch. **12 b**, 280.
- Weissenfels, N., 1957: Elektronenoptischer Nachweis von Schraubenstrukturen im Grundcytoplasma tierischer Zellen. Naturw. **44**, 241.
- 1958: Über die Entleerung und Entwicklung der Mitochondrien und den Feinbau des Cytoplasmas von embryonalen Zellen. Z. Naturforsch. **13 b**, 182.



# **Anormogenetische und parasitogene Syncytienbildung bei Turbellarien**

Von

**Erich Reisinger**

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Graz

Mit 9 Textabbildungen

*(Eingegangen am 25. Juni 1958)*

## **Einleitung**

In der seit jeher umstrittenen Beurteilung der Stellung der Plathelminthen innerhalb der Bilaterien hat sich in den letzten Jahren insofern eine Radikalisierung und Versteifung der Ansichten durchgesetzt, als man auf der einen Seite (Hadži und Steinböck) so weit geht, die acölen Turbellarien und damit alle höheren Evertibraten unmittelbar von ciliaten-ähnlichen Protozoen herzuleiten, während man auf der anderen Seite (Remane) eine Reihe der für die Plathelminthen so typischen, einfachen Organisationszüge, vor allem das Fehlen des Cöloms, des Enddarms und des Afters, vielleicht auch des Gefäßsystems durch sekundäre Rückbildung zu erklären sucht, eine Auffassung, die im übrigen kein Geringerer als K. Heider bereits 1914 mit aller Reserve in Erwägung gezogen hat. Obwohl sich die Hadži-Steinböckschen Theorien in ihren gegenwärtigen Fassungen allein schon auf Grund der total verschiedenen Sexualverhältnisse der gamontogamen Ciliaten einerseits und der gametogamen Metazoen andererseits als äußerst problematisch erweisen, ist es nicht beabsichtigt hier das Für und Wider der beiden Auffassungen zu erörtern (vgl. die treffende Kritik Remanes in Verh. Zool. Ges. Graz, 12/1!), zumal man mit theoretischen Erwägungen allein weder das eine noch das andere Lager wird überzeugen können; die ergebnislos verlaufene Diskussion Remane-Steinböck auf der 51. Jahrestagung der Deutschen Zoologischen Gesellschaft in Graz 1957 beweist das zur Genüge! Hier sollen statt dessen experimentelles Tatsachenmaterial und pathologisch bedingte Abänderungen der normalen Gewebstrukturen erörtert werden, die geeignet erscheinen, das Problem der angeblichen Ursprünglichkeit der „syncytialen“ oder „plasmodia-

len“ Beschaffenheit der Turbellariengewebe abzuklären. Die Bedeutung des Endocytiums (Westblad, 1948) = verdauendes Parenchym (Graff) = Entoplasmodium (Steinböck) als angeblich primäre Struktur, und die Wahrscheinlichkeit der Berechtigung der Hadži-Steinböckschen Überlegungen können dabei überprüft und ein nicht unwesentlicher Beitrag zur Struktur- und Dynamik der Gewebe bei der in Diskussion stehenden Tiergruppe erbracht werden.

### Syncytiation bei experimenteller Anormogenese

Der zellige Aufbau des Trikladenkörpers hat noch niemals ernsthaft in Zweifel gestanden, kann man sich doch davon jederzeit mit Hilfe des Phasenkontrastverfahrens am lebenden Objekt, durch Mazeration sowie am histologischen Präparat mühelos überzeugen. Nichtsdestoweniger kommt es in Fällen besonderer physiologischer Aktivität zu einem vorübergehenden Verschwinden der Zellgrenzen, ein reversibler Prozeß, der besonders nach starker Nahrungsaufnahme an dem mit der Nahrungspagozytose befaßten Darmepithel leicht zu beobachten ist. Besonders bei der intraplasmatischen Verdauung von größeren Nahrungsbrocken kommt dieser vorübergehenden Synzytiumbildung eine erhebliche Bedeutung zu (Westblad 1923). Der Prozeß der Synzytiation steht dabei, in voller Bestätigung der Westbladschen Befunde, am Ende einer Reihe von Veränderungen am Darmepithel, die mit der Schwellung der Zellen infolge stärkerer Wasseraufnahme beginnen und über eine Phase gesteigerter, amöboider Bewegung im Dienste der Phagozytose zur totalen Zellverschmelzung führen. Ein Ineinandergreifen dieser Vorgänge erschwert dabei die Abgrenzung der einzelnen strukturellen Veränderungen gegeneinander. Nachdem alle Nahrungskörper in das Plasma des Darm-synzytiums aufgenommen sind, beginnt, im Zuge der fortschreitenden intraplasmatischen Verdauung, eine allmähliche Restitution der histologischen Struktur des intakten Darmepithels. Die verschwundenen Zellgrenzen beginnen wieder sichtbar zu werden (nach dem Phasenkontrastverfahren 2 bis 4 Stunden eher als am histologischen Präparat!) und der frühere, rein zellige Aufbau ist unter Wiedereinnahme der alten Zellareale wieder hergestellt. Hauser (1956) glaubt demgegenüber an *Crenobia* (*Planaria*) *alpina* Dana vollkommen andere Verhältnisse feststellen zu können. Seine Befunde, denen zufolge es nach jeder ausgiebigen Nahrungsaufnahme zu einer totalen oder partiellen „Auflösung der anatomisch-histologischen Struktur“, nicht etwa nur des Darmepithels, sondern auch der Muskulatur, der Nervenstränge (!), der Dotterstöcke usw. kommen soll, sind so abenteuerlich und in ihren Schlußfolgerungen so gewagt, daß dem Verfasser fundamentale Untersuchungsfehler technischer Art unterlaufen sein müssen, die zu einer, durch die beigebrachten Mikrophotographien belegten, teilweisen Mazeration seiner Tiere geführt haben.

Nach dem Gesagten ist die vorübergehende, reversible Synzytiation des Trikladendarms ein an bestimmte Funktionsphasen gebundener, also strukturdynamischer Vorgang, der keinerlei Veranlassung

dazu gibt, den primär zelligen Charakter des Darmepithels irgendwie in Zweifel zu ziehen. Irreversibel ist die Syncytisierung bei der Bildung des sogenannten Dottersyncytiums während der Embryonalentwicklung. In diesem Fall handelt es sich aber nur um ein vermutlich fermentativ ausgelöstes Zusammenfließen der der Resorption durch den Keim unterwor-

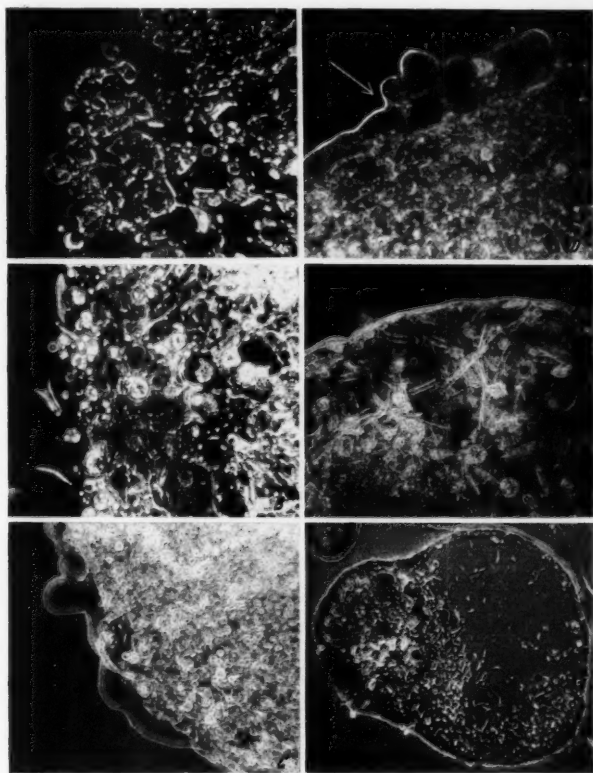


Abb. 1. *Planaria polydora* O. Schmidt, Breistruktur und Restitution im Anoptral-Phasenkontrast. A: Brei unmittelbar nach der Pressung; einzelne Zellen, Zelltrümmer und Drüsensekret (Rhabditen). B: Zwei Minuten nach der Pressung, Zellverschmelzung im Gange, Bildung einer geschlossenen Oberfläche ohne Beteiligung von Epithelzellen. C: Amöboide, hyaloplasmatische Fortsätze des sich von unten her vorschiebenden Restitutionshäutchens; die Syncytisierung der Innenmasse ist im Gange. D: Umwachsungsrand des Restitutionshäutchens; links von dem Pfeil fertiges Restitutionshäutchen, rechts amöboide Fortsatzbildung des freien Randes. E: Restitutionshäutchen fertig gebildet, im Inneren Syncytiumbildung und beginnende Zytolyse nicht syncytiierteter Zellen, vor allem der noch deutlich erhaltenen Parenchymmuskelfasern. F: Fertiger, atypischer Restitutionskörper mit extrem starker innerer Zytolyse. — A—E: Lebendaufnahmen. F: Schnittpräparat.

nenen Dotterzellen, also um einen rein trophischen Vorgang an einem zum restlosen Verbrauch bestimmten Material. Die Keimesentwicklung selbst verläuft in den Frühstadien bekanntlich rein zellig unter anfänglich völliger räumlicher Trennung (Blastomerenanarchie) der einzelnen Furchungszellen.

Quetscht man Süßwassertrikladen unter Beigabe von geeigneten Zusatzflüssigkeiten durch Müllergaze, so bilden sich in dem so erhaltenen Gewebsbrei, wie ich bereits 1932 festgestellt habe (vgl. Freisling-Reisinger 1958, Kap. 1), kugelige, wimpernde Restitutionskörper oder Sphären, deren histologischer Aufbau weitgehend von dem normaler Planariengewebe abweicht und syncytiale Formzustände aufweist, wie sie sonst nur im peripheren und zentralen Parenchym der Acölen, d. h. in dem angeblich primordialen Gewebe („Archihiston“) der Turbellarien verwirklicht sind. Sphärenbildung im Gewebsbrei, die sich stets im Anschluß an die bei der Pressung erhalten gebliebenen Körperepithelreste als typische organisierte Anormogenese (Lehmann) vollzieht, hier zu schildern erübrigt sich, da bereits andernorts (Freisling-Reisinger 1958) ausreichend darauf eingegangen wurde; hier interessiert lediglich der Syncytiierungsprozeß im Gewebsbrei bei der Restitutionskörperbildung. Der frische Brei vor Beginn der Sphärenbildung (Abb. 1, A) läßt bei Untersuchung im Anoptral-Phasenkontrast-Mikroskop in einer plasmatischen Grundmasse ungeordnete Fragmente fast aller Gewebsarten erkennen. Die zellige Struktur ist trotz der weitgehenden Desintegration der beteiligten Ausgangsgewebe noch weitgehend gewahrt, das Grundplasma offenbar im Zuge von Entmischungsvorgängen der mechanisch zerstörten Elemente entstanden. Freie Breiränder zeigen im Zusammenhang mit anfänglicher Erhaltung der zelligen Struktur eine deutliche Auflockerung, zur Bildung einer zusammenhängenden Oberflächenschicht kommt es in der Folge allerdings auch dort, wo mangels von Körperepithelresten keine Restitutionshäutchenbildung erfolgt (Abb. 1, B) und die Sphärenbildung unterbleibt. Letztere ist im übrigen nach unseren Feststellungen (Freisling-Reisinger 1958) an drei Voraussetzungen gebunden, nämlich an das Vorhandensein von flimmernden Körperepithelfragmenten (1), an einen direkten Kontakt zwischen der Epithelzellenbasis und mesenchymalen Gewebselementen (2) und an eine ausreichende Viskosität des Breies (3). Sind diese Bedingungen erfüllt, dann kommt es unter rascher Abflachung der Epidermisfragmente und der Ausbildung von flachen, pseudopodenartigen Randlappen (Abb. 1, C) zur Ausbildung eines anfänglich kernlosen oder äußerst kernarmen Restitutionshäutchens sowie zur Umwachsung der sich abgliedernden, in die Sphärenbildung eingehenden Breimasse und damit zur endgültigen Sonderung des Restitutionskörpers gegenüber seiner Umgebung. Das aus dem wohlindividualisierten Körperepithel hervorgegangene Restitutionshäutchen zeigt keine Zellgrenzen mehr und gleicht weitgehend dem von Bartsch (1923) erstmalig hinsichtlich seiner Histogenese untersuchten Wundhäutchen bei der normalen Regeneration. Das vom Restitutionshäutchen umschlossene Innere der Kugel unterliegt einer

außergewöhnlich raschen Syncytisierung und damit parallel gehenden Histolyse (Abb. 1, D, E), von der lediglich Drüsenzellen und Muskelfasern anfänglich verschont bleiben. Besonders histolysefest sind freie Bindegewebszellen, die ihre Individualität zum Teil erhalten dürften und als „Neoblasten“ erheblichen Anteil am Aufbau des fertigen Sphärensyncytium nehmen. Besonders rasch vollzieht sich die Auflösung des Nervengewebes und der Darmepithelzellen, die bald spurlos verschwinden, eine Tatsache, die vielleicht eine Möglichkeit gibt, die eben kritisierten Beobachtungen Hausers zum Teil als paravital zu deuten. Fertig gebildete Restitutionskörper haben, falls typisch entwickelt, die Gestalt von wimpernden Kugeln. Ihre Oberfläche wird von einer sehr kernarmen,

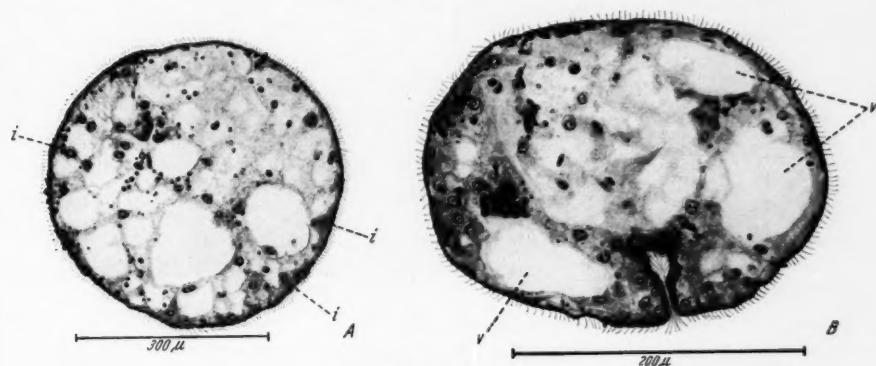


Abb. 2. Syncytialer Bau der Restitutionskörper. A: typische Sphäre, vier Stunden nach Herstellung des Gewebsbreies; kernarmes, gleichmäßig bewimpertes Restitutionshäutchen, deutlich ausgeprägter Körnersaum und beginnende Einwanderung von amöboiden Zellen (*i*) in die Deckschicht (= Restitutionshäutchen); Kugelinnes weitgehend syncytiert, Vakuolenbildung im Gange. B: Pseudogastrula, 24 Stunden nach Herstellung des Gewebsbreies; unten blastoporusartige Einstülpung der Deckschicht, der Pseudourdarm befindet sich unmittelbar vor dem Durchbruch in eine der im Inneren der Kugel gebildeten, vom Syncytium umgebenen Vakuolen (*v*). — Kernechtrot-Mallory.

zilientragenden Deckschicht, dem Restitutionshäutchen gebildet, in das intensiv färbbare Körper und Stäbchen in dichter Anordnung eingelagert sind. Zweifellos sind es Reste zerfallener Rhabditen und die Basalkörner des ehemaligen Wimperepithels. Das Innere der Restitutionskörper nimmt bereits innerhalb der ersten Stunden ein meist vakuolisiertes, typisch syncytiales Aussehen an, das eine ausgesprochene Ähnlichkeit mit dem Zentralparenchym (= Endocytium) der Acölen hat. Stets sind in ihm verschieden weit zytolysierte Gewebsreste und freie Bindegewebszellen nachzuweisen. In den ersten 3 bis 6 Stunden schreitet die Syncytisierung immer weiter fort und die Vakuolisierung nimmt zu. Die Kerne des Syncytiums liegen dabei meist in den Knoten des die Vakuolen begrenzenden Plasmanetzes. Hand in Hand mit der zunehmenden

Vakuolisierung wandern Neoblasten aus dem Syncytium in das Restitutionshäutchen ein, ein Vorgang der erst die Volumszunahme der Sphären ermöglicht und wiederum suggestive Vergleiche mit der Solidifikation des Wundhäutchens durch Wanderzellen während der Regeneration zuläßt (Abb. 2, A, i). Die Vakuolenbildung im Syncytium erreicht nach 10 bis 15 Stunden ihr Maximum. Der typische Verlauf der Vakuolisierung führt über zahlreiche kleine Anfangsbläschen und deren Verschmelzung zur Bildung von wenigen (1 bis 4) Großvakuolen (Abb. 2, A, B) unter gleichzeitiger erheblicher Volumszunahme der betreffenden Sphären. Mit zunehmendem Alter bildet sich das an das Vakuolenlumen grenzende Plasma zu einer deutlichen Grenzschichte um, in die Zellkerne aus dem Syncytium

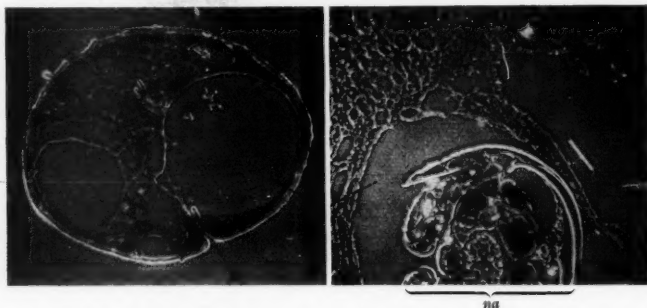


Abb. 3. Anoptralaufnahmen von Schnitten durch eine Pseudogastrula (A) und das Zentralparenchym einer acölen Turbellarie, *Anaperus gardineri* Graff (B), zur Veranschaulichung der übereinstimmenden Struktur des Syncytiums (sy); v = Vakuole der Sphäre (Pseudogastrula) bzw. Verdauungsvakuole von *Anaperus*; na = Nahrungskörper (Copepode); m = Einstülpung (Pseudoblastoporus) des Restitutionskörpers.

einwandern, ohne daß es zu einer zelligen Sonderung kommt. Das zwischen der Vakuolenwandung und der wimpernden Deckschicht der Sphären verbleibende Syncytium gleicht sich in der Folge immer weitgehender der Struktur des zentralen Acölenparenchyms (Endocytium) in der Umgebung der Verdauungsvakuolen dieser Tiere an, Übereinstimmungen, die außerordentlich eindrucksvoll sind (Abb. 3, sy) und die eindeutig beweisen, daß diese von den Verfechtern des Primärcharakters des Endocytiums als ursprünglich postulierten Plasmastrukturen auch im Zuge von erwiesenermaßen sekundären, experimentell ausgelösten Anormogenesen aus rein zelligem Ausgangsmaterial entstehen können. Auf die gelegentlich auftretende Pseudogastrulation, d. i. auf die spontane Invagination der Deckschicht der Sphären (Abb. 2, B) braucht hier nicht näher eingegangen werden, da sie zwar entwicklungsmechanisch bemerkenswert (Freisling-Reisinger 1958) ist, zum Problem der experimentellen Syncytiierung aber keine neuen Gesichtspunkte aufwirft.

Zum Abschluß sei zusammenfassend festgestellt, daß es bei der als organisierte Anormogenese ablaufenden Sphärenbildung in Planarien-



gewebebrei stets zu einer weitgehenden Desintegration des zelligen Gefüges und zur Syncytienbildung kommt, die Hand in Hand mit der gleichzeitigen Histolyse der meisten alten Gewebsstrukturen erfolgt und schließlich zu einem stationären Zustand führt, der dem Gewebebau intakter Planarien fremd ist und weitgehend mit dem histologischen Bau des Zentralparenchyms der Acölen übereinstimmt.

### Syncytiierung bei Eucoccidienbefall

*Otomesostoma auditivum* Forel & Duplessis, ein in arktischen und alpinen Seen weitverbreiteter Strudelwurm, wird gelegentlich von einem zu den Coccidien gehörigen Sporozoon befallen, durch dessen Anwesenheit es zu einer sehr auffallenden Syncytiierung des normalerweise stets zellig, als einschichtiges Epithel aufgebauten Darmgewebes kommt. Im Gegensatz zu der oben geschilderten anormogenetischen Syncytiumbildung in den Planariensphären ist die histogenetische Umbildung der Darmepithelzellen als Folge des Parasitenbefalles nicht stationär, sondern reversibel, d. h. der alte zellige Aufbau des Darmepithels wird nach Erlöschen des Parasitenbefalles in vollem Umfang wiederhergestellt. Das die Syncytiierung auslösende Sporozoon gehört der Gattung *Eucoccidium* an und steht dem marinen *Eucoccidium dinophili* Grell sehr nahe.

*Eucoccidium monoti* n. sp.: Im Darmepithel und im anschließenden Parenchym von *Otomesostoma* parasitierend. Makrogamonten oval, bis  $30 \times 45 \mu$  groß; Mikrogamonten  $\pm$  kugelförmig, bis 19 bis  $22 \mu$  groß. Makrogameten kugelförmig, Mikrogameten gedrunken, mit 2 Geißeln. Bei schwacher bis mittelstarker Infektion werden nur Makrogameten gebildet, die, nach Umbildung zu Oocysten, auf parthenogenetischem Wege eine wechselnde Zahl von Sporen mit je 4 bis 6 Sporozoiten bilden. Bei starker Infektion treten Mikrogamonten und frei bewegliche Mikrogameten auf, die Fortpflanzung ist dann bisexual. Die reifen Oocysten werden in das Darmlumen ausgestoßen und gelangen mit den Nahrungsrückständen nach außen, wo sie größtenteils aufplatzen und die Sporen verstreuen. Neuinfektion erfolgt offenbar durch Aufnahme von Sporen mit der Nahrung; die im Darm freiwerdenden Sporozoiten dringen in das Darmepithel ein. Selbstinfektion durch vorzeitig frei werdende Sporozoiten kommt regelmäßig vor, sie kann zu einer rapiden Steigerung des Parasitierungsgrades führen (vgl. Schema Abb. 4).

Der Darm von *Otomesostoma auditivum* ist, worauf zuerst Zacharias (1886) hingewiesen hat, scharf gegen das Körperparenchym abgesetzt und mit einer feinen Grenzmembran und einer dieser außen anliegenden zarten Längsmuskulatur versehen. Die Darmepithelzellen besitzen weder Geißeln noch Cilien, sind, wie v. Hofsten (1907) treffend beschreibt, langgestreckt keulenförmig und durch sehr deutliche Zellgrenzen (Abb. 5, A) scharf gegeneinander abgesetzt. Minotsche Körnerkolben (Fermentzellen) sind in regelloser Anordnung allenthalben in das Epithel eingeschaltet. Trotz der klaren Individualisierung der einzelnen Darmzellen ist ihr Phagozytosevermögen nicht eingeschränkt. Im

Gegensatz zu dem Verhalten des Darmepithels bei Tricladen und zahlreichen Rhabdozöen mit nicht wimperndem Darmepithel bleibt der zellige Aufbau des *Otomesostoma*-Darmes auch nach maximaler Beladung (Abb. 5, B) mit Nahrungsgranula erhalten, eine Tatsache, die an histologisch tadellos erhaltenen Schnittpräparaten und bei Phasenkontrastuntersuchung lebenden Darmgewebes jederzeit erkannt werden kann. Etwaige abweichende Beobachtungen fallen ausschließlich einer unzureichenden Untersuchungstechnik zur Last. Die permanente Erhaltung der zelligen Struktur des Darmepithels normaler Tiere unabhängig vom dem jeweiligen Funktionszustand macht die parasitäre Syncytieierung besonders auffallend und aufschlußreich.

Am auffallendsten ist die Umbildung der Darmepithelstruktur nach einer Masseninvasion durch *Eucoccidium*-Sporozoitien, die man leicht dadurch auslösen kann, daß man stark infizierte Tiere, deren Darmlumen reichlich ausgestoßene Oocysten und Sporen enthält, mit Tubifexfragmenten zu einem Brei verarbeitet und diesen dann an ausgehungerte *Otomesostomen* verfüttert. Bereits 3 bis 5 Stunden später findet man dann das Darmepithel der Versuchstiere geradezu infiltriert von den teils halbmondförmigen, teils bereits in Umbildung zu ovalen Wachstumsstadien begriffenen Sporozoitien (Abb. 5, C). Die Kerne der Darmepithelzellen, ihre Cytozentren und Chondriome sind unverändert, die vorher deutlichen

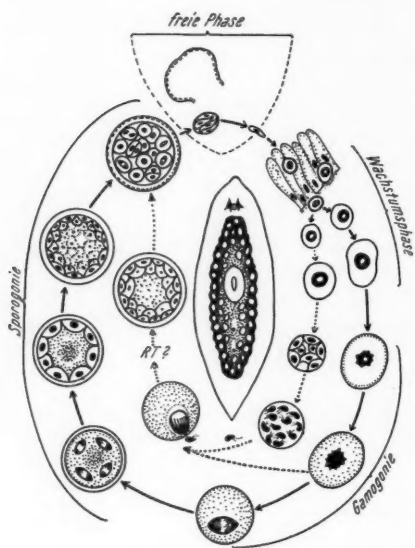


Abb. 4. *Eucoccidium monoti* n. sp., Entwicklungsgang. Normalerweise verläuft die Entwicklung parthenogenetisch (ausgezogene Pfeillinien), bei starker Infektion (punktierte Pfeillinien) findet Mikrogametenbildung statt, die Fortpflanzung ist dann bisexuell. RT = mutmaßliche Stelle der Meiose. In der Mitte der Zyklen die schematisierte Darstellung eines infizierten *Otomesostoma*.

Zellgrenzen jedoch verschwunden. Zupfpräparate vom überlebenden, infizierten Darmgewebe ergaben bei Untersuchung mit dem Phk-Mikroskop eine volle Bestätigung des Schnittbildes: es ist unmöglich, Zellareale in dem parasitendurchsetzten, völlig syncytiiertem Plasma abzugrenzen. Befunde an *Ophelia* (Polychaeta), bei der es nach einer Infektion mit den Sporozoitien der Gregarine *Rhytidocystis* (Beauchamp 1913) zur Bildung von, offenbar phagozytär wirksamen, mehrkernigen Riesenzellen durch Verschmelzen von jeweils mehreren

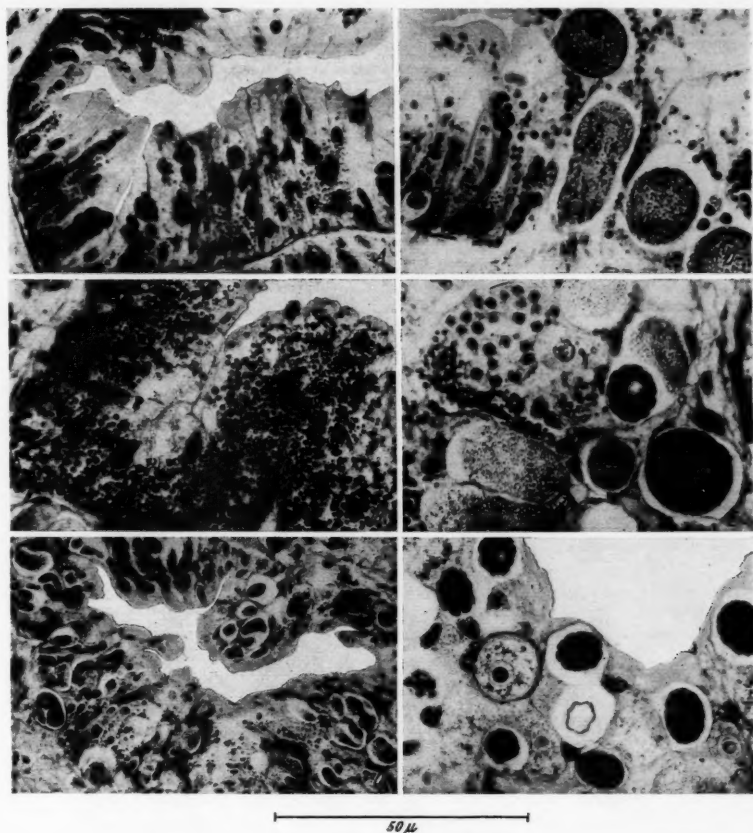


Abb. 5. *Otomesostoma auditivum*, parasitäre Syncytisierung des Darmepithels. A: Darmepithel eines nichtinfizierten Tieres mit sehr deutlichen Zellgrenzen, Minotschem Körnerkolben und wenig Nahrungsgranula. B: Darmepithel nach maximaler Nahrungsaufnahme (*Tubifex*), Zellgrenzen trotz stärkster Nahrungsgranulaaufnahme deutlich erhalten. C: Syncytisierung des Darmepithels nach dem Eindringen zahlreicher *Eucoccidium*-Sporozoitien und deren beginnender Umbildung zu Wachstumsstadien. D: Partielle Syncytisierung durch Makrogamonten (rechte Teilbildhälfte), links, wo nur ein frisch abgekugelter Sporozoit vorhanden ist, ist die zellige Struktur des Darmepithels erhalten. E: Totale Syncytisierung, Makrogamonten, Mikrogametenbildung. Trotz der weitgehenden Verdrängung des syncytiierten Darmepithels durch die Parasiten hat es sein Nahrungsaufnahmevermögen, wie die deutlichen Granula zeigen, noch erhalten. F: Maximale Parasitierung, das Darmsyncytium ist bis auf die Zellkerne und spärliche Plasmabrüken zwischen den in Sporulation begriffenen Parasiten verschwunden, behält aber nichtsdestoweniger die Fähigkeit bei, nach Ausstoßen der Parasiten das normale, zellige Epithel zu restituieren. — Bouin-Allen, Kernechtrot-Mallory.

Amöbocyten und zur Abkapselung durch bindegewebig veränderte Darmepithelzellen kommt, legen den Schluß nahe, daß es auch bei der Syncytienbildung im *Otomesostoma*-Darm der durch den Parasiten gesetzte Reiz ist, der die primäre Zellverschmelzung auslöst. Die Eucoccidien selbst

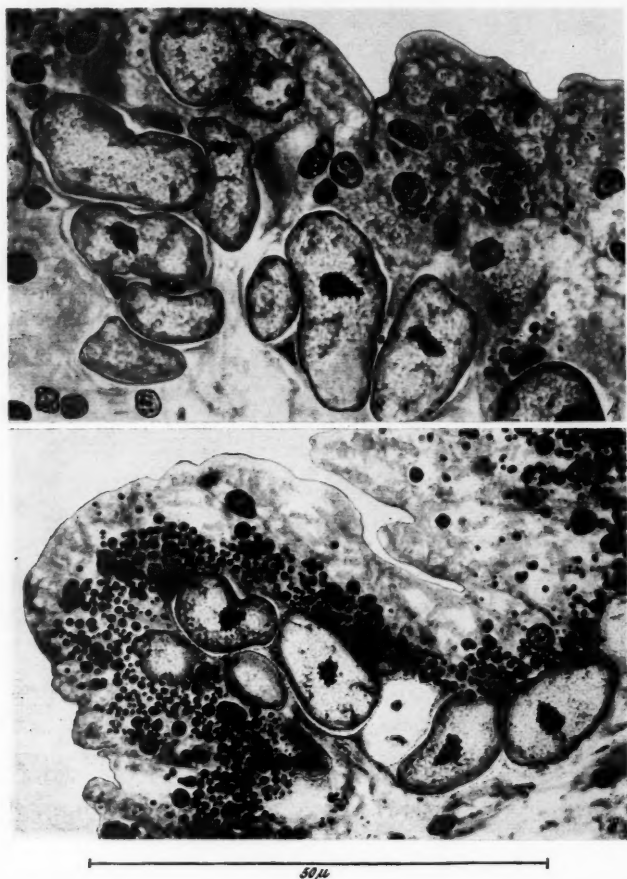


Abb. 6. *Otomesostoma*, totale, parasitäre Syncytisierung des Darmepithels. A: Fast erwachsene Makrogamonten von *Eucoccidium* in den basalen Darmgewebsschichten. Das Darmepithel ist vollständig syncytiiert, die Grenzmembran des Epithels und die Darmmuskulatur sind verschwunden, es besteht keine scharfe Grenze mehr zwischen Darmsyncytium und Parenchym. B: Das syncytiierte Darmepithel enthält zahlreiche Nahrungsgranula, zwei junge Eucoccidien und eine Reihe von fast erwachsenen Makrogamonten im Bereiche der vorübergehend verschwundenen Darmparenchymgrenze. Beachte die normale Struktur der Darmepithelkerne und die vollständige Syncytisierung der cytoplasmatischen Anteile des Epithels. — Champy-Langeron, Kernechtrot-Mallory.

werden dabei, nach den bisher vorliegenden Beobachtungen, in keiner Weise geschädigt. Hält sich die Sporozoeninfektion in mäßigen Grenzen, dann behält das nunmehr vollständig syncytierte Darmepithel seine Fähigkeiten zur

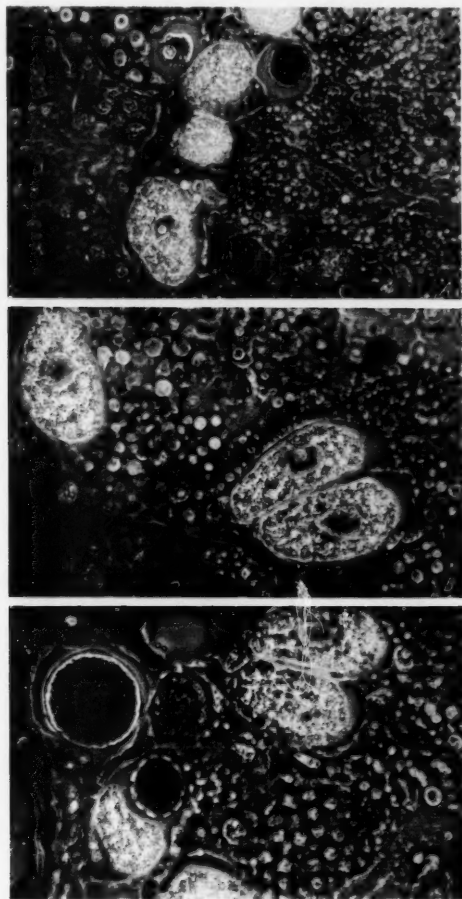


Abb. 7. *Otomesostoma*, fortschreitende parasitäre Syncytiierung. A: Vier Makrogamonten und zwei Sporulationsstadien an der Basis des mit Nahrungsgranula beladenen Darmepithels (rechte Teilbildhälfte); Zellgrenzen noch in Spuren erhalten. Grenzmembran verschwunden, im Parenchym (links) Reste der Darmmuskulatur. B: Drei erwachsene Makrogamonten im Darmsyncytium, beginnende Membranbildung in der Umgebung der Parasiten. C: Mikrogamont (links oben), Mikrogametenbildung und mehrere Makrogamonten mit deutlicher Hüllmembranbildung seitens des umgebenden Darmsyncytiums. Rechts unten: Freie Mikrogameten im Darmplasma. — Champy mit Nachosmierung, ungefärbte Schnitte im Anoptral-Phasenkontrast.

Verdauung und Resorption in wenig eingeschränktem Umfang bei (Abb. 6, B). Unabhängig davon kommt es mit fortschreitender Syncytisierung zum Verschwinden der Basalmembran (Grenzmembran) des Darmepithels und zur Histolyse der spärlichen Muskelfasern, wodurch eine Fusion des Darmsyncytiums mit dem anschließenden Bindegewebe eingeleitet wird, die den Parasiten einen teilweisen Übertritt in dessen darmnahe Bereiche ermöglicht (Abb. 6, A, B). Darmferne Bindegewebs(Parenchym)gebiete werden niemals befallen. Die Parasitierung löst also im Kontaktgebiet zwischen Darmsyncytium und Parenchym Vorgänge aus, die weitgehend an die entsprechende Situation im Übergangsgebiet zwischen dem zentralen und dem peripheren Acölenparenchym erinnert.

Mit zunehmender Befallsstärke und mit dem Beginn der Gametenbildung und der Sporulation wird schließlich das Darmsyncytium auf schmale Lücken zwischen den Parasiten zurückgedrängt (Abb. 5, E, F), worauf dann die Fähigkeit des betreffenden Darmteiles zur Nahrungsaufnahme und -verarbeitung völlig erlischt. Darmabschnitte, in die zufällig keine Parasiten eingewandert sind, unterliegen keiner Syncytisierung (Abb. 5, D), ihr Epithel behält seine zellige Struktur bei, die Grenzmembran und die Darmmuskulatur bleiben erhalten und der Verdauungsprozeß verläuft normal. Untersuchungen ungefärbter Schnitte mit dem Anoptral-PhK-Mikroskop bestätigen die Ergebnisse der herkömmlichen histologischen Analyse (Abb. 7). Sie lassen die fortschreitende Syncytisierung besonders gut erkennen und zeigen, daß das Darmsyncytium in der Umgebung der Eucoccidien deutliche Membranen bildet, wodurch eine Abkapselung der Parasiten ermöglicht wird, wie sie sonst nur durch Amöbocyten oder freie Bindegewebszellen möglich ist. Möglicherweise liegt der Sinn der Syncytisierung gerade in dieser Abwehrreaktion begründet. Mit der Ausscheidung der Oocysten bzw. ihrer Sporen durch den Mund der Würmer, geht die Befallsstärke spontan zurück, ein Vorgang, dem unmittelbar die Wiederherstellung des ursprünglichen zelligen Zustandes des Darmepithels folgt. Während dieser Restitutionsphase treten keine Mitosen im Syncytium auf, es liegt mithin eine echte Cellularisation eines ehemals durch Zellfusion entstandenen Syncytiums vor.

### Experimentelle Cellularisation

Die Fähigkeit zelliger Gewebe, bei anormogenetischen Differenzierungsvorgängen in Gewebsbreien und als Reaktion auf Parasitierung in intakten Tieren Syncytien zu bilden, die sonst in der normalen Histogenese der betreffenden Organismen nicht auftreten, ist nach den oben mitgeteilten Befunden für *Planaria* und *Otomesostoma* gesichert; die sich daraus notwendigerweise ergebenden Schlußfolgerungen hinsichtlich des Problems der Existenz oder Nichtexistenz primär syncytialer Gewebestruktur bei Metazoen konnten solange nicht ausgesprochen werden, solange es nicht möglich war, den reziproken Vorgang, d. i. die experimentelle Cellularisation oder zellige Desintegration normalerweise syncytialer oder plasmodialer Gewebe durch geeignete Eingriffe auszulösen. Un-



ter den Turbellarien besitzen u. a. die Kalyptorhynchier und einige Catenuliden (*Dasyhormus lithophorus* Marcus, *Rhynchoscolex simplex* Leidy) eine syncytiale Epidermis bei sehr übersichtlichen Strukturverhältnissen. Formen mit „eingesenktem Epithel“, wie die Acölen, die Pro-rhynchiden, die Otoplaniden u. a., unter denen es Arten gibt, bei denen gleichfalls Syncytienbildung am Integument vorliegen dürfte, müssen aus technischen Gründen vorläufig unberücksichtigt bleiben. Besonders instruktiv sind die Kalyptorhynchier, die nach Meixners (1925) und Karlings (1947, 1951) eingehenden Untersuchungen größtenteils eine typisch syncytiale Epidermis besitzen, an der weder mit histologischen Methoden (Mazeration, Versilberung der Zellgrenzen, Fe-Hämatoxylin-Methoden u. ä.), noch im Phasenkontrastmikroskop einzelne Zellen oder diesen entsprechende Plasmabezirke festzustellen sind. Bekannte Formen mit typisch syncytialer Epidermis sind *Gyatrix hermaphrodita* Ehrenberg und *Koinocystis neocomensis* Fuhrmann. Bei beiden Arten gelang die experimentelle, zellige Desintegration des Hautsyncytiums durch mechanische Erschütterung der entsprechend vorbehandelten, noch lebenden Tiere. Die Objekte werden in der bei der Untersuchung von Kleinturbellarien üblichen Weise vorsichtig bis zur fast vollständigen Immobilisation unter dem Deckglas gequetscht und beim ersten Anzeichen einer beginnenden Ablösung der Epidermis durch leichtes, einige Minuten hindurch anhaltendes Klopfen auf den Objektträger mit einer federnden Pinzette gleichmäßig erschüttelt. Bei *Gyatrix* tritt bei dieser Behandlung eine Auflösung der syncytialen Epidermis in einzelne, sich von der Basalmembran lösende und abkugelnde Plasmaportionen ein, die je einen Kern, ein Cytocentrum und eine stark lichtbrechende, die winzigen Rhabditen enthaltende

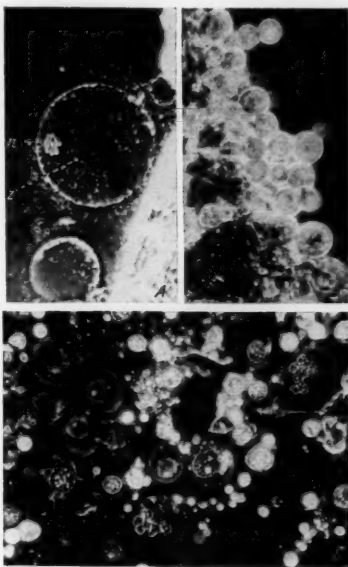


Abb. 8. Zellige Desintegration. A: *Gyatrix*, abgekugelte, aus dem Epidermissyncytium entstandene, bewimperte Zelle mit typisch gelapptem Epithelkern (n), Cytocentrum (z) und aus Mikrorhabditen gebildeter Grenzsicht. B: Zellige Desintegration der primärzelligen Epidermis von *Catenula*. C: *Koinocystis*, zellige Desintegration; Epidermiszellen (leicht kenntlich an den gelappten Zellkernen), Parenchymzellen (abgerundet, mit runden Kernen, je einem Nukleolus und dunkel erscheinendem Chondriom) und Darmzellen (mit stark lichtbrechender Granula), nebeneinander im Gewebsbrei. — Anoptal-Phasenkontrastaufnahmen des lebenden Materials.

Grenzschicht aufweisen, bewimpert sind und die nach vollständiger Loslösung bei ausreichendem Platz sogar in Rotation geraten können (Abb. 8 A). Bei richtigem Deckglasdruck und passender Erschütterungszeit unterbleibt dabei jede weitere Beschädigung des Tieres, so daß schließlich ein von der intakten Basalmembran umhüllter, „nackter“ *Gyatrix* mit vollkommen unbeeinflussten inneren Organen inmitten der losgelösten flimmernden Epidermisfragmente vorliegt, ein Vorgang, der ganz frappant an das bekannte Abstoßen der Epidermiszellen eines Miracidiums bei dessen

Umwandlung in die Sporocyste erinnert. Es liegt auf der Hand, daß der geschilderte Vorgang nur im Sinne eines zelligen Zerfalls des syncytialen Körperepithels gedeutet werden kann, denn die entstehenden überlebenden (Flimmerung!) Körper haben ja alle Merkmale isolierter Zellen. Bemerkenswerterweise gelingt es auch bei Formen mit zelligem Bau des Körperepithels die grundsätzlich gleiche Desintegration auszulösen, und da zeigt es sich nun bei Phasenkontrastuntersuchung, daß der Zerfall in Übereinstimmung mit den bereits vorher sichtbaren Zellgrenzen erfolgt (Abb. 8, B). Bei *Koinocystis neocomensis* ist die Desintegration beinahe noch eindrucksvoller als bei *Gyatrix*, da bei dieser Form gelegentlich ein Totalzerfall des Körpers erreicht werden kann, der ausschließlich zelliger Art ist und bei dem sich die frei gewordenen Epithelzellen infolge ihrer gelappten Kerne (Abb. 8, C) ohne

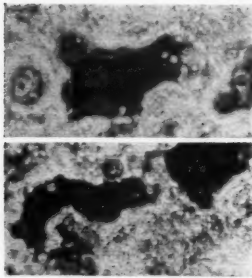


Abb. 9. *Bothrioplana*, zerquetschtes Parenchym mit freier, in Mitose begriffener Bindegewebszelle in zwei Phasen mechanischer Deformation; trotzdem Erhaltung der Individualität! — Anoptal-Phasenkontrast.

weiteres von Parenchymzellen und Darmzellen (!) unterscheiden lassen. Ähnlich verhält sich übrigens auch *Anoplorhynchus piger* Meixner. Daß auch die von manchen Forschern vertretene Auffassung der „plasmodialen“ Natur des Parenchyms revisionsbedürftig erscheint, sei durch die erstaunliche Formbeständigkeit freier Parenchymzellen bei *Bothrioplana semperi* Braun belegt (Abb. 9), bei der man die Zellen zerquetschter Gewebe erheblichen mechanischen Deformationen unterwerfen kann, ohne daß diese ihre, (theoretisch vielleicht gar nicht vorhandene!), Individualität einbüßen würden.

### Diskussion

Die hier an Stelle von unbeweisbaren Spekulationen vorgelegten Befunde zeigen, daß es bei den untersuchten Strudelwürmern möglich ist, eine Syncytiierung zweifellos zelliger Gewebe experimentell oder durch Parasitierung auszulösen und daß die dabei erzielten Syncytien weitgehend dem sogenannten Endocytium oder Zentralparenchym der meisten Acölen gleichen. Die Syncytiierung kann sowohl reversibel (Parasitierung) als auch irreversibel (Sphärenbildung) sein. Die

reversible Syncytisierung deutet bereits darauf hin, daß der primär zellige Zustand lediglich morphologisch aufgehoben wird, daß er aber latent oder ultravisibel erhalten bleibt, eine Auffassung, die zumindestens einfacher ist als die erzwungene Hypothese einer vollkommenen Neuaufteilung des vorhandenen Plasmas auf die einzelnen Kerne oder Energiden (Kerne + kernnahe Plasmahöfe). Die mechanisch auslösbare Cellularisation von syncytialen, dem normalen Bauplan eigentümlichen Gewebeelementen, bei der eine Aufteilung der Syncytien auf einzelne, mit allen Attributen normaler Zellen versehene Körper stattfindet, ergänzt die bei der Syncytisierung erhobenen Befunde in der überzeugendsten Weise. Eine nüchterne Betrachtung ergibt überhaupt keinen grundsätzlichen Unterschied zwischen den artifiziell anormogenetisch oder parasitogen entstandenen und den normalen Syncytien bei Turbellarien; sie läßt in den Syncytien lediglich strukturdynamisch bedingte Ausprägungen eines latent dauernd vorhandenen zelligen Aufbaus sehen, der sich direkt auf die bisher bei allen Turbellarien nachgewiesene zellige Struktur des Keimes zurückführen läßt. Auch die Primitiventwicklung der, angeblich primär plasmodialen, Acölen — ich habe selbst Frühstadien von *Convoluta*, *Otocelis* und *Aphanostoma* untersucht — verläuft rein zellig nach dem Spiraltyp (Duettfurchung), genau so zellig wie die aller anderen, bisher überhaupt untersuchten Turbellarien, mögen diese ento- oder ektotezithale Eier besitzen. Vor diesen ganz klaren Tatsachen muß fürderhin derjenige seine Augen verschließen, der weiterhin darauf besteht, bei Turbellarien von plasmodialen Strukturen zu sprechen. Das „Archhiston“ (Steinböck 1958) ist genauso wenig ein Plasmodium wie die als Ekto-, Meso- und Entoplasmodien bezeichneten Körperschichten der Acölen, denn sie alle entstehen durch Fusion ursprünglich wohl individualisierter Embryonalzellen, sind also Syncytien, z. T., wie unsere Versuche erwiesen haben, sogar unter Beibehaltung einer latenten Cellularisation. Das erstaunliche Regenerationsvermögen des Acöलगewebes steht damit in gar keinem Widerspruch; die umfassende prospektive Potenz der als „Archäocyten“ oder als „Regenerationszellen“ bezeichneten, nicht determinierten Bindegewebelemente beweist das zur Genüge: niemand hat noch deren Zellnatur auf Grund ihrer „Totipotenzt“ in Zweifel gezogen! Die von Steinböck und Hadži vertretene Ableitung der Metazoen von Ciliaten über polyenergide plasmodiale Stadien erscheint allerdings durch unsere Befunde weitgehend erschüttert.

### Zusammenfassung

1. Preßt man Planarien durch Müllergaze, dann kommt es in dem Gewebsbrei zur anormogenetischen Bildung von bewimperten Restitutionskörpern oder Sphären. Der zellige Aufbau des Ausgangsmaterials wird dabei weitgehend umgebildet und durch ein typisches Syncytium ersetzt, das eine auffallende strukturelle Übereinstimmung mit dem gleichfalls syncytialen Endocytium (Zentralparenchym) der Acölen aufweist.

Das Syncytium der Sphären ist zur Bildung von individualisierten Großvakuolen befähigt und stellt eine stationäre Gewebsstruktur dar, die es bei normalen Planarien niemals gibt.

2. Befall des rein zellig aufgebauten Darmepithels von *Otomesostoma* durch parasitische Protozoen führt zu weitgehender bis totaler Syncytisierung. Im Gegensatz zur Sphärenbildung, deren syncytialer Bau einen stationären Zustand darstellt, ist die parasitäre Syncytisierung reversibel: nach Ausstoßen der Parasiten wird der primär zellige Bau des Darmepithels in vollem Umfang wiederhergestellt.

3. Durch mechanische Reize gelingt es, das primär typisch syncytiale Integument von *Gyatrix* und *Koinocystis* experimentell zur Cellularisation zu bringen. Die entstehenden Desintegrationskörper sind typische Zellen mit allen Zellorganellen und sprechen für die latente Existenz der Zellareale in den Syncytien.

4. Bei den Turbellarien besteht kein grundsätzlicher Unterschied zwischen den anormogenetisch oder parasitogen entstandenen Syncytien und den Geweben der vom Schlüpfen ab syncytial gebauten Formen, denn beide Typen können zellig desintegriert werden, was in Übereinstimmung mit der ausnahmslos zelligen Primärstruktur früher Embryonalstadien steht.

5. Primärplasmodien gibt es mithin bei Turbellarien (und wohl allen Metazoen) nicht; das Archihiston ist reine Fiktion, denn die in der Natur realisierten oder experimentell induzierten zellgrenzfreien Gewebe sind typische, auf zelliger Basis durch Fusion entstandene Syncytien. (Auch bei den Acölen mit ihrer rein zelligen Primitiventwicklung.)

6. Der Versuch, die Metazoen von Ciliaten über polyenergide plasmodiale Stadien abzuleiten, ist auf Grund unserer experimentellen Ergebnisse als mit den Tatsachen unvereinbar, abzulehnen.

#### Literatur

- Bartsch, O., 1923: Die Histiogenese der Planarienregenerate. Arch. mikrosk. Anat. und Entw.mechan. 99.
- Beauchamp, P. de, 1915: Recherches sur les *Rhytidocystis* parasites des Opheles. Arch. Protistenk. 31.
- Bresslau, E., 1909: Die Entwicklung der Acölen. Verh. dtsh. zool. Ges. 19. Vers. Frankfurt a. M.
- und E. Reisinger, 1935: Turbellaria. In: Handbuch d. Zool. II. Berlin, Leipzig, W. de Gruyter u. Co.
- Dubois, F., 1949: Contribution à l'étude de la migration des cellules de régénération chez les Planaires dulcicoles. Bull. biol. France et Belg. (Fr.) 83.
- Freisling, M., und E. Reisinger, 1958: Zur Genese und Physiologie von Restitutionskörpern aus Planarien-Gewebsbrei. Roux' Archiv 150.
- Gardiner, E. A., 1895: Early development of *Polychoerus caudatus* Mark. J. Morphol. (Am.) 2.
- Hadži, J., 1949: Die Ableitung der Knidarien von den Turbellarien und einige Folgerungen dieser Ableitung. XIII. Congrès Intern. de Zoolog. Paris, S. 448.
- 1952: A comparison of the sexual phase of infusorians with the sexual reproduction of turbellarians. „RAD“, Acad. Jugosl., T. 280.

- Hadži, J., 1953: An Attempt to Reconstruct the System of Animal Classification. Syst. Zool., Vol. 2.
  - 1955: Kritische Bemerkungen zu Remanes' und einiger anderer Autoren Ansichten über die Phylogenie der Tiere vom Standpunkte der Turbellarien-Theorie der Knidarien. Acad. scient. et art. slovenica, class. IV: hist. natur., Razpr. 3, 127.
  - 1955: Zur Diskussion über das neue Zoologische System. Abh. Slov. Akad. III. Text slov., Auszug deutsch.
  - 1956: Das Kleinsein und Kleinwerden im Tierreiche. Ein weiterer Beitrag zu meiner Turbellarien-Theorie der Knidarien. Proc. XIV. intern. Congr. of Zool. Copenhagen 1953.
  - 1957: Zur Diskussion über die Abstammung der Eumetazoen. Verh. dtsh. zool. Ges. 21. Vers. Graz.
  - Hauser, P. J., 1956: Histologische Umbauvorgänge im Planariendarm bei der Nahrungsaufnahme. Mikroskopie 11, 1—2, Wien.
  - Meixner, J., 1925: Beitrag zur Morphologie und zum System der *Turbellaria* — *Rhabdocoela*. I. Die *Kalyptorhynchia*. Z. Morph. u. Ökol. Tiere 3.
  - 1926: II. Über *Typhlorhynchus nanus* Laidlaw und die parasitischen Rhabdocoelen, nebst Nachträgen zu den *Kalyptorhynchia*. Ebenda 5.
  - Pechlaner, R., 1957: Die Regenerationsfähigkeit von *Otomesostoma auditivum* (Forel et Duplessis). Roux' Arch. 50.
  - Reisinger, E., 1924: Die Gattung *Rynchoscolex*. Z. Morph. u. Ökol. Tiere 1.
  - Remane, A., *Coelenterata, Turbellaria, Nemertini*. In: Handbuch d. Biologie VI, 3. Liefg.
  - 1954: Die Geschichte der Tiere. In: Evolution der Organismen, 2. Aufl.
  - 1958: Zur Verwandtschaft und Ableitung der niederen Metazoen. Verh. dtsh. zool. Ges. 21. Vers. Graz.
  - Saint-Hilaire, C., 1910: Beobachtung über die intracelluläre Verdauung in Darmzellen der Planarien. Z. allg. Phys. 11.
  - Steinböck, O., 1952: Keimblätterlehre und Gastraeatheorie. Pyramide 2, H. 1/2.
  - 1954: Sobre la mision del „plasmodio digestivo“ en la regeneracion de *Amphiscolops* (*Turbellaria acoela*). Mit deutscher Zusammenfassung. Publ. Inst. Biol. aplic. 17.
  - 1954: Regeneration acoeler Turbellarien. Verh. dtsh. zool. Ges. Tübingen 1954.
  - 1958: Zur Phylogenie der Gastrotrichen. Verh. dtsh. zool. Ges. 21. Vers. Graz.
  - 1958: Schlußworte zur Diskussion Remane—Steinböck. Ibid.
  - Westblad, E., 1923: Zur Physiologie der Turbellarien. Lunds Univ. Årsskrift, U. F. Avd. 2, 18., N. F. 33.
- Weitere Literaturangaben in den Verzeichnissen zu den Arbeiten von Steinböck, Remane, Hadži und Freisling-Reisinger.

### Sammelreferat

## **Biochemische Ergebnisse von pflanzenphysiologischer Bedeutung<sup>1</sup>**

Bericht über den IV. Internationalen Kongreß für Biochemie, Wien 1958

Von

**Helmut Kinzel, Wien**

Mit 22 Textabbildungen

*(Eingegangen am 18. Dezember 1958)*

Vom 1. bis 6. September 1958 fand in Wien der 4. Internationale Kongreß für Biochemie statt. Es war dies der größte wissenschaftliche Kongreß, den Wien jemals gesehen hat, vielleicht sogar einer der größten wissenschaftlichen Kongresse überhaupt. Der erste Eindruck, den man schon beim Studium der Vorabdrucke gewann, war der der übergroßen Menge des Gebotenen. Etwa 1700 Vorträge waren angemeldet und wurden größtenteils auch gehalten, zum Teil von eingeladenen Rednern in den Symposien und Kolloquien, zum Teil als frei angemeldete Vorträge in den sogenannten Sektionen. Dies ist mehr, als irgendein Mensch überblicken kann. Was ist hierzu zu sagen? Zunächst ist klar, daß nur ein Teil der vorgelegten Arbeiten allen Anforderungen entsprechen wird. Es wird natürlich ein gewisser Anteil von Irrtümern und Fehlbeobachtungen darunter sein. Es wird aber auch Arbeiten geben, die irgendwie unzulänglich und unbefriedigend sind, vor allem weil sie oft nicht mit dem nötigen Feingefühl dafür begonnen werden, welche Fragen gerade brennend geworden sind, oder welche Fragen zur Bearbeitung reif geworden sind, oder welche Fragen mit den Mitteln des betreffenden Instituts in befriedigender Weise bearbeitet werden können. Solche Arbeiten bieten dann nichts wesentlich Neues bzw. sie müssen früher oder später mit besseren Methoden oder besseren Kenntnissen wiederholt werden. Und hier liegt nun eine bedeutende Schwierigkeit: Obwohl in der Wissenschaft grundsätzlich jede Angabe überprüfbar ist, ist doch eine experimentelle Überprüfung aller dieser vielen Angaben eine praktische Unmöglichkeit und daher muß sehr vieles einfach hingenommen, geglaubt werden, obwohl der Leser genau weiß, daß manches davon einer genauen Prüfung nicht standhalten würde. So gehört heute schon zu den notwendigen Eigenschaften

<sup>1</sup> Nach einem Vortrage, gehalten vor der Zoologisch-Botanischen Gesellschaft in Wien am 24. Oktober 1958.



eines Wissenschaftlers ein gewisses Fingerspitzengefühl für echt und unecht, eine Eigenschaft, die erkenntnistheoretisch sehr anfechtbar, doch heute bereits eine praktische Notwendigkeit geworden ist. Aber auch wenn man tatsächlich alle diese falschen oder unzulänglichen Angaben ausscheiden könnte, würde immer noch ein „Zuviel“ bleiben. Auch das, was an Richtigem mitgeteilt wird, ist mehr, als irgendein Mensch wirklich geistig assimilieren kann. Was wird nun geschehen? Es werden die Handbuchschreiber kommen und die mitgeteilten Daten in ihre Sammelwerke einbauen. Und das ist gut so. Wir sind den Autoren der Handbücher dankbar, sie liefern uns eine unbedingt notwendige Grundlage für das Weitere. Aber hier taucht nun die Frage auf: Grundlage wofür? Geschieht nun noch etwas mit dem hier aufgestapelten Wissen? Vielleicht hilft uns ein Vergleich weiter: Wenn man, wie es zuweilen geschieht, die Originalarbeiten mit den Bausteinen unseres Wissens vergleicht, dann könnte man so einen Kongreßbericht einem wirren Haufen von Ziegelsteinen vergleichen, wie man ihn oft an Bauplätzen liegen sieht. Der nächste Schritt ist der, daß Arbeiter kommen und diese Ziegelsteine in übersichtliche Haufen schichten. Diese übersichtlichen Stöße von Bausteinen wären nun etwa mit den Handbüchern zu vergleichen. Aber es ist klar, daß dies nicht der letzte Schritt ist. Die eigentliche Bestimmung von Ziegelsteinen ist nicht die, daß man sie zu Stößen schichtet, sondern daß man ein Haus aus ihnen baut. Wie dieses Vergleichsobjekt, dieses geistige Haus, nun genannt werden soll, ist schwer zu sagen, aber das Wesentliche dürfte wohl aus dem Vergleich selbst abzulesen sein. Es handelt sich für uns darum, das Beobachtete in seinen größeren Zusammenhängen zu sehen, die wesentlichen Ordnungen des Lebendigen herauszuarbeiten und zu einem mittelbaren Bild zu gestalten. Wir leiden unter einem Übermaß von ungestaltetem Wissen.

Der gegenwärtigen Haltung vieler Wissenschaftler, vor allem im amerikanischen Raum, liegt ein Konzept zugrunde, das in seinen Wurzeln auf Francis Bacon zurückgeht und auch zum Teil vom Positivismus vertreten wurde: Es sei nur nötig, Informationen über Beobachtungsergebnisse weiterzugeben und aus der Summe dieser Informationen werde sich, wie in einem spontanen Kristallisationsprozeß, das Bild der Wirklichkeit von selbst zusammenfügen. Die Eindrücke von einem solchen großen Kongreß und die Erfahrungen, die man täglich mit der immer mehr anschwellenden Literaturflut macht, sind dazu geeignet, dieses Konzept ad absurdum zu führen. Der Schluß, der daraus gezogen werden muß, wurde schon oben in Form eines Vergleiches ausgesprochen: Die Gestaltung eines unseres heutigen Wissen entsprechenden Bildes der Wirklichkeit ist ein gegenüber der experimentellen Forschung selbständiger geistiger Vorgang, der uns als Aufgabe gestellt ist.

Damit wir dieser Aufgabe gerecht werden können, sind vor allem zwei Dinge nötig: 1. Der experimentell arbeitende Forscher muß diese Aufgabe selbst ernst nehmen und darf sie nicht irgendwelchen am Rande der Wissenschaft stehenden Leuten überlassen, die eine leichte Feder führen. 2. Man muß sich dafür Zeit nehmen oder, noch deutlicher gesagt, Muße. Wir pflegen heute nur jene Zeit positiv zu bewerten, die in einer bienengleichen Emsigkeit verbracht wird. Sollte es einem Wissenschaftler einmal einfallen, einen Tag lang spazieren zu gehen und nachzudenken, dann würde er von seinen Kollegen mit sehr vorwurfsvollen Blicken bedacht werden. Aber die Möglichkeit, in die Stille zu gehen, ist eine der wesentlichen Voraussetzungen jeder geistigen Arbeit. Sie wird in der Naturwissenschaft heute zu wenig

beachtet. Wenn sich hier nicht in der Haltung der einzelnen Wissenschaftler vieles ändert, werden wir der Menschheit etwas schuldig bleiben, was sie mit Recht von uns erwarten darf, nämlich den Bau eines Weltbildes, in dem einige Generationen von Menschen eine geistige Heimat haben können.

Es folgt nun eine Auswahl aus den Mitteilungen des Kongresses, wie sie für den eingangs erwähnten Zweck (vgl. Fußnote S. 644) zusammengestellt wurde. Der große Themenkreis der Verholzung, dem am Kongreß ein ganzes Symposium gewidmet war, wurde dabei deshalb nicht berührt, weil darüber in der genannten Gesellschaft ein eigener Vortrag von K. Kratzl vorgesehen war. Ausgewählt wurden vor allem die Arbeiten, die vom Standpunkt des Pflanzenphysiologen aus interessant sind. Dabei wurden jene Gebiete bevorzugt, auf denen mehrere Autoren zu verwandten Fragen Stellung nehmen. Eine große Menge von Arbeiten, die unzusammenhängende Einzelmitteilungen darstellen, wurde übergangen. Nur so ließ sich der Umfang des Mitgeteilten in erträglichen Grenzen halten.

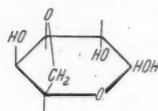


Abb. 1. 3,6-Anhydrogalaktose (nach A r a k i).

C. A r a k i (Kyoto) berichtete über die chemische Zusammensetzung der Polysaccharide von Meeresalgen, insbesondere des Agar. Er stellte dabei einen neuen Bestandteil des letzteren fest, nämlich den seltenen Zucker 3,6-Anhydro-L-Galaktose (Abb. 1). A r a k i konnte das Agar in zwei Komponenten zerlegen, die er in offensichtlicher Anlehnung an die beiden Komponenten der Stärke Agarose und Agaropektin nannte. Letzteres scheint den Großteil, wenn nicht die Gesamtmenge der Schwefelsäuregruppen und der Uronsäure zu enthalten. Für die Agarose wird eine mögliche Kettenzusammensetzung angegeben (Abb. 2). Danach wäre das Kettenmolekül der Agarose abwechselnd aus D-Galaktose und 3,6-Anhydro-L-Galaktose aufgebaut. Dabei ist zu beachten, daß verschiedene Bindungsarten abwechseln. Einmal ist es eine 1,4-Bindung, einmal eine 1,3-Bindung.

E. L. H i r s t (Edinburgh) berichtete über die Gummisubstanzen der höheren Pflanzen. Die Mannigfaltigkeit auf diesem Gebiet ist größer, als man zunächst erwarten konnte. Die einzelnen chemischen Individuen

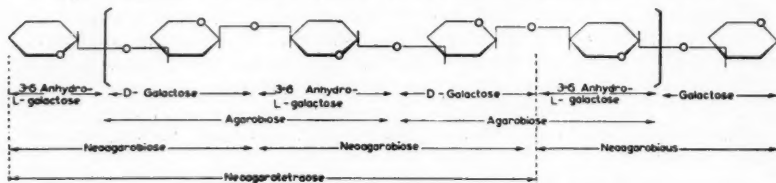


Abb. 2. Mögliche Struktur von Agarose (nach A r a k i).

sind sehr kompliziert zusammengesetzt, treten in Gemischen auf und scheinen bis zu einem gewissen Grad artspezifisch zu sein. Die charakteristischen Gummieigenschaften scheinen im wesentlichen davon abzuhängen, daß das Molekül erstens genügend groß ist, zweitens viele hydrophile Gruppen (also Hydroxyl- und Carboxylgruppen) enthält und drittens, wie es zumeist der Fall ist, verzweigt ist. Durch die Verzweigung des Moleküls wird eine Bildung von Mizellen verhindert. Eine solche Mizellbildung, wie sie immer bei Cellulose und Amylose stattfindet, nimmt der betreffenden Sub-

stanz ihren gummiartigen Charakter. Die mitgeteilten Ergebnisse zeigen ferner ganz klar, daß eine Gummisubstanz nicht durch eine einfache Verquellung von Zellwänden entstehen kann, wie dies die älteren Pflanzenphysiologen glaubten. Die komplizierten Makromoleküle der Gummisubstanz müssen vielmehr von der gummiproduzierenden Zelle von Grund aus aufgebaut werden. Eine der einfachsten Gummisubstanzen ist z. B. das Gerstenglucan. Es besteht nur aus Glucose. Der Unterschied gegenüber Cellulose und Stärke, der die Gummieigenschaften ausmacht, besteht lediglich darin, daß zwei verschiedene Bindungsarten einander abwechseln. Während Cellulose und Stärke stets 1,4-Bindungen enthalten, liegen beim Gerstenglucan einmal eine 1,3-Bindung und einmal eine 1,4-Bindung vor, beides in  $\beta$ -Konfiguration. Durch diese abwechselnden Bindungsarten bekommt das Molekül offenbar jene Asymmetrie, die eine Mizellbildung unmöglich macht und der Substanz die gummiartigen Eigenschaften verleiht. Schon etwas komplizierter gebaut ist der Guar-Gummi oder Guar an aus *Cyanopsis tetragonoloba* (Abb. 3). Die Hauptkette des Polysaccharides be-

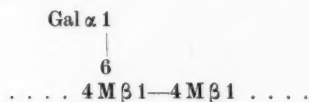


Abb. 3. Kettenglied des Guar an (nach Hirst).  
Gal = D-Galactopyranose, M = D-Mannopyranose.

steht hier aus Mannose, die in  $\beta$ -1,4-Bindung verknüpft ist. Jeder zweite Mannose-Rest trägt dann in 6-Stellung noch einen Galaktose-Rest. Es handelt sich also um eine spärlich, aber regelmäßig verzweigte Kette. Allgemein wurde festgestellt, daß es unter den Gummisubstanzen große Mengen von verwandten Verbindungen gibt, wobei Gruppen gebildet werden mit gemeinsamer Hauptkette und mannigfach variablen Seitenketten. So z. B. gibt es viele Verbindungen mit einer Mannosehauptkette, wie oben, oder andere mit einer Galaktosehauptkette. Ein besonders schwieriges Untersuchungsobjekt ist die bekannteste der gummiartigen Substanzen, nämlich das Gummi arabicum. Sein Molekül ist besonders kompliziert gebaut, auch scheinen mehrere Substanzen nebeneinander vorzuliegen. Hauptbestandteile sind Galaktose, Arabinose, Glucuronsäure, manchmal auch Rhamnose. Das Molekulargewicht beträgt etwa 150.000. Nach den bisherigen Ergebnissen besteht die Hauptkette aus Galaktose in 1,3-Bindung mit Seitenketten, die selbst wieder außergewöhnlich reich verzweigt sind (Abb. 4). Bei der Untersuchung verschiedener ähnlicher Sorten von Gummi arabicum, die aus verschiedenen Pflanzenarten stammen, erhielten die Untersucher den Eindruck, daß es artspezifische Gummisubstanzen gebe. Es muß in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen werden, daß nach den neueren Ergebnissen die Mannigfaltigkeit im Molekülbau der Polysaccharide fast an diejenige bei den Proteinen heranreicht. Die Zahl der Bausteine ist zwar bei den Kohlehydraten geringer als bei den Proteinen, dafür ist aber die Zahl der Verknüpfungsmöglichkeiten bei den Kohlehydraten weitaus größer. Während zwei Aminosäuren immer nur durch die gleiche Peptidbindung verbunden werden können, bestehen bei den Kohlehydraten eine große Anzahl verschiedener Möglichkeiten, von denen einige genannt wurden. Lediglich die Bildung von übermolekularen Strukturen, die ja die



jenigen Hemicellulosen, die als Zellwandauflagerungen in zahlreichen Samen vorkommen und bei der Keimung tatsächlich abgebaut werden. Diese werden aber im Aufsatz von Whistler nicht erwähnt.

Eines der aktuellsten Arbeitsgebiete der Biochemie ist heute die Virusforschung und die damit eng verknüpfte Erforschung der Nucleinsäuren. Die hier mitgeteilten Daten sind einerseits dem Vortrag von

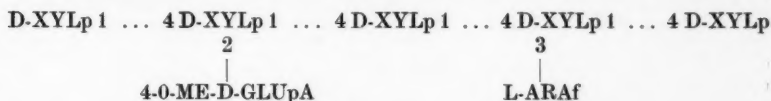


Abb. 5. Ausschnitt aus der Molekülkette von Haferstroh-Hemicellulose (nach Whistler).

D-XYLp = D-Xylopyranose, L-ARaf = L-Arabinofuranose,  
ME-D-GLUpA = Methylglucuronsäure.



Abb. 6. Ausschnitt aus der Molekülkette von Maiskolben-Hemicellulose B (nach Whistler).  
(Symbole wie bei Abb. 5.)

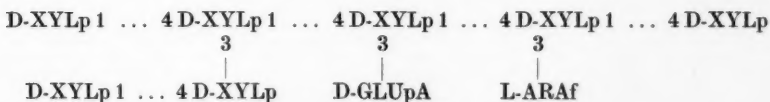


Abb. 7. Ausschnitt aus der Molekülkette von Weizenstroh-Hemicellulose (nach Whistler).

D-GLUpA = Glucuronsäure, sonst wie bei Abb. 5.

G. Schramm (Tübingen), andererseits dem Schlußvortrag über das Symposium 7 von E. Broda (Wien) entnommen. Schramm arbeitete hauptsächlich mit dem bekannten Tabakmosaikvirus. Schon an anderer Stelle hatte Schramm wesentliche morphologische Angaben über das genannte Virus gemacht. Es handelt sich, wie bekannt, um stäbchenförmige Teilchen von etwa 300 m $\mu$  Länge, die zu 5,6% aus Ribonucleinsäure und zu 94% aus Protein bestehen. Wollte man ihnen ein Molekulargewicht im üblichen Sinne zuteilen, dann würde dieses 40.000.000 betragen. Nach neueren Untersuchungen besteht das Virusteilchen aus einem Hohlzylinder von Protein, in den ein Nucleinsäurefaden eingelagert ist. Sowohl der Proteinhohlzylinder als auch der Nucleinsäurestrang sind spiralig gestaltet (Abb. 8). Wichtig und neu ist nun, daß nicht das ganze Virusteilchen zu einer Infektion nötig ist, sondern nur die darin enthaltene Nucleinsäure. Es gelingt durch geeignete chemische Maßnahmen, den Proteinteil des Virus abzuspalten und

mit reiner Nucleinsäure zu arbeiten. Die reine RNS wirkt sogar rascher als das ganze Virusteilchen. Daraus wurde die Vermutung abgeleitet, daß das Protein nur als Schutzhülle für das Nucleinsäuremolekül wirken könnte. Diese Meinung ist um so mehr berechtigt, als der Nucleinsäureteil vollkommen unverletzt sein muß, wenn er eine Infektion hervorrufen soll. Dieser RNS-Teil des Virus besteht aus etwa 6000 Nucleotiden und besitzt das Molekulargewicht 2.000.000. Wird auch nur eine einzige Phosphatbindung gesprengt, das heißt zerfällt dieser Nucleinsäurefaden in zwei Teile, dann erlischt die biologische Aktivität. Schramm teilte ferner einige interessante Versuche mit, die darauf abzielen, die Nucleinsäure chemisch zu

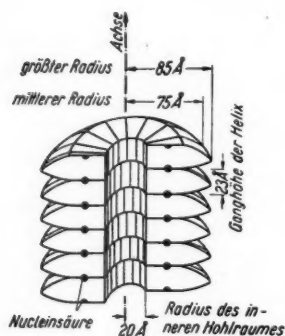


Abb. 8

Abb. 8. Strukturmodell des Tabakmosaikvirus (nach Franklin 1956 aus Schramm 1957).

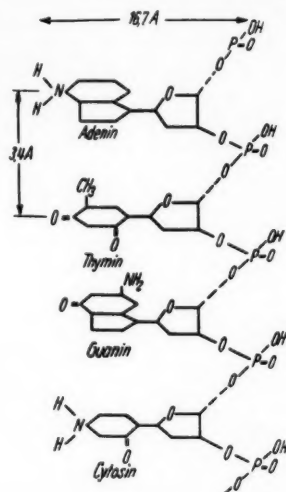


Abb. 9

Abb. 9. Molekulares Gerüst der Desoxyribonucleinsäure (aus Haas 1955).

verändern. Die beigegebene Formel (Abb. 9) zeigt, daß die Purin- oder Pyrimidinbasen der Nucleinsäuren auch Aminogruppen enthalten. Wie aus der organischen Chemie bekannt ist, werden Aminogruppen durch eine Behandlung mit salpetriger Säure in Hydroxylgruppen verwandelt. Nun kann man durch entsprechend schonenden Einsatz der salpetrigen Säure auch die in der RNS enthaltenen Aminogruppen in Hydroxylgruppen verwandeln. Dabei trat nun die erstaunliche Tatsache hervor, daß schon der Verlust von ganz wenigen Aminogruppen je Molekül eine Vernichtung der biologischen Aktivität herbeiführt. Die Grenze scheint bei einer Aminogruppe auf je 3000 Nucleotide zu liegen. Wenn also zwei Aminogruppen je Nucleinsäuremolekül in Hydroxylgruppen verwandelt werden, kann schon die biologische Aktivität vernichtet werden, oder aber es kann zum Auftreten einer Mutation

Übersicht über die verwendeten Abkürzungen:

ATP = Adenosintriphosphat    DNS = Desoxyribonucleinsäure  
ADP = Adenosindiphosphat    RNS = Ribonucleinsäure  
AMP = Adenosinmonophosphat    TPN<sup>+</sup> = Triphosphopyridinnucleotid (Coenzym II)  
FMN = Flavinmononucleotid    TPNH = reduziertes TPN<sup>+</sup>



kommen, d. h., es entsteht ein Virus, das auch infektiös ist, aber gegenüber dem ursprünglichen Virus etwas veränderte Eigenschaften hat und diese beibehält. Aus dieser Beobachtung lassen sich nun biologisch sehr bedeutsame Folgerungen ableiten. Einmal wird daraus klar, daß eine Mutation einer chemischen Änderung einer Nucleinsäure gleichkommt, was schon lange vermutet worden war, aber hier wohl erstmals exakt nachgewiesen wurde. Zweitens geht daraus hervor, daß auch die RNS befähigt ist, genetische Informationen weiterzugeben, eine Eigenschaft, die bisher vor allem der DNS zugeschrieben worden war. Die Pflanzenviren enthalten aber ganz allgemein nur RNS. Es gibt auch höhere Viren, vor allem aus der Gruppe der Bakteriophagen, die DNS enthalten. Tierpathogene Viren enthalten entweder RNS oder DNS, niemals aber beide zugleich.

C. E. Hall (Cambridge, Massachusetts) konnte durch eine besonders subtile Technik Nucleinsäuremoleküle im Elektronenmikroskop sichtbar machen. DNS erschien dabei in Form von sehr langen glatten Strängen von etwa 20 Å Durchmesser. Die RNS erschien in Form von Fäden, die etwa 30 Å dick und 500 bis 1000 Å lang waren. Interessant ist dabei, daß die Molekülgestalt oft von dem pH-Wert der zum Zeitpunkt der Präparation in der Lösung herrschte, abhängig ist. So bildet eine künstlich hergestellte Polyadenylsäure bei pH 8,6 äußerst dünne, lange, unregelmäßige Stränge von etwa 10 Å Durchmesser, während bei pH 4,4 wohldefinierte Fäden von 30 Å Durchmesser und 200 bis 4000 Å Länge vorliegen. Aus Röntgenmessungen ist zu schließen, daß bei pH 8,6 flexible Einzelfäden, bei pH 4,4 Doppelschrauben vorliegen.

J. A. V. Butler (London) berichtete über die Uneinheitlichkeit der Nucleinsäuren. Wenn es wirklich so ist, daß der wesentliche Bestandteil jedes Gens ein spezifisches Molekül von DNS ist, dann müssen die aus verschiedenen Organismenteilen extrahierten Nucleinsäuren große Mengen verschiedener Komponenten enthalten. Die Kunst, diese Komponenten voneinander zu trennen, steckt erst in ihren Anfängen. Immerhin geht aus den mitgeteilten Beobachtungen schon deutlich hervor, daß die extrahierten Präparate tatsächlich nicht einheitlich sind.

Eine Arbeit von P. Alexander und K. A. Stacey (London) beschäftigt sich mit den Veränderungen, die DNS durch ionisierende Strahlen und bestimmte mutagene Substanzen erleiden kann. Die ionisierende Strahlung wirkt auf eine doppelte Weise: Einerseits erzeugt sie im Wasser bestimmte Radikale und Peroxyde, die auf die DNS einwirken, andererseits wirkt die Strahlung direkt auf die Moleküle der DNS ein. In beiden Fällen kommt es zu Kettenbrüchen, die an einer Verminderung der Viskosität meßbar sind. Nach neueren Vorstellungen besitzt die DNS eine übermolekulare Struktur, die darin besteht, daß je zwei Molekülketten schraubig umeinander gewunden sind. Es kann nun interessanterweise vorkommen, daß nur die eine der beiden Ketten durch die Strahlung oder sonstwie gebrochen wird. Dabei kann dann der Bruch verborgen bleiben, wenn die andere der beiden Ketten noch intakt ist (Abb. 10). Nur dann, wenn beide Ketten an nahe benachbarten Stellen gebrochen werden, zerfällt auch die ganze übermolekulare Schraube in zwei Teile. Die verborgenen Brüche werden aber dann offenkundig, wenn durch geeignete Mittel die Wasserstoffbrücken, die die beiden Ketten zusammenhalten, gelöst werden, z. B. durch Einwirkung starker Harnstofflösung.

Veränderungen an DNS-Molekülen können auch durch die sogenannten mutagenen Chemikalien hervorgerufen werden. Mutagen wirken

vor allem solche Substanzen, die sowohl mit ionisierten Säuregruppen als auch mit Aminogruppen zu reagieren vermögen (z. B. Epoxyde, Stickstofflost u. a.). Wiederum wird deutlich, daß eine Mutation in einer chemischen Veränderung eines Nucleinsäuremoleküls besteht. Es ist interessant, daß die ionisierenden Strahlen und die mutagenen Chemikalien außer ihrer mutagenen Wirkung noch eine zweite gemeinsame Eigenschaft haben, sie wirken nämlich gleich stark tumorhemmend.

Für den vitalfärbenden Zellphysiologen mag es interessant sein, daß die Biochemiker nun auch den bekannten Vitalfarbstoff Acridinorange als

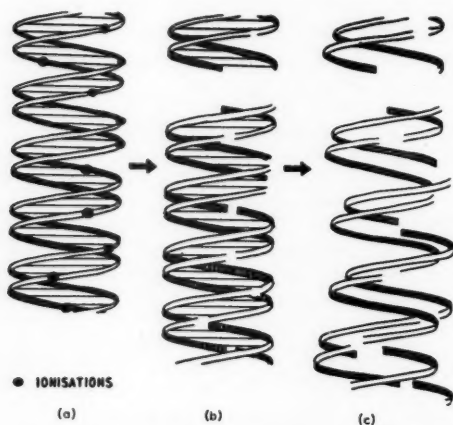


Abb. 10. Die Entstehung „verborgener Brüche“ in den Doppelschrauben von DNS infolge einer Bestrahlung im trockenem Zustand. Nur wenn an benachbarten Punkten der beiden Molekülketten Brüche erzeugt werden, bricht die ganze Doppelschraube (b). Nach Zusatz von Harnstofflösung werden die Wasserstoffbrücken, die die beiden Schrauben zusammenhalten (dünne schwarze Linien) gelöst und die „verborgenen Brüche“ werden offenkundig (c) (nach Alexander und Stacey).

testen, die sich mit der Biosynthese der Proteine beschäftigen. Schon seit langem war den Biochemikern klar, daß die Biosynthese der Proteine keine einfache Umkehr des enzymatischen Abbaues derselben sein könne, und zwar zunächst aus thermodynamischen Gründen, weil der Abbau eine exergone Reaktion ist und seine Umkehr eine Zufuhr von Energie erfordert. Zweitens aber war kein einfacher enzymatischer Mechanismus denkbar, der es garantiert, daß die verschiedenen Aminosäuren stets in der richtigen Reihenfolge aneinandergelagert werden und daß ferner die für die biologische Aktivität der Proteine so bedeutsame übermolekulare Struktur zustande kommt. Schon vor längerer Zeit war nachgewiesen worden, daß bei der Biosynthese der Proteine die Nucleinsäuren eine bedeutsame Rolle spielen. Verschiedene Vorstellungen waren über die Art dieser Beteiligung

Untersuchungsobjekt entdeckt haben. Zwei Arbeiten, nämlich von R. F. Beers (Baltimore) sowie von R. F. Steiner (Bethesda) und Beers beschäftigen sich mit den Wechselwirkungen von Acridinorange und Nucleinsäure. In einem Falle wird berichtet, daß Acridinorange die Synthese von Polynucleotiden aus ADP und anderen Substanzen durch Enzyme aus Bakterien hemmt. Im anderen Falle werden die Komplexe untersucht, die das Acridinorange mit Polynucleotiden zu bilden vermag. Es werden zwei verschiedene Arten von Komplexen näher beschrieben.

Das meist besuchte Symposium am Kongreß war jenes über die Biochemie der Proteine. Unter den Mitteilungen dieses Symposiums waren wiederum für den Zellphysiologen die Mitteilungen am interessan-

entwickelt worden. Erst in allerletzter Zeit jedoch wurden Experimente bekannt, bei denen tatsächlich eine Proteinsynthese *in vitro* beobachtet worden war, d. h. eine Proteinsynthese ohne Beteiligung ganzer lebender Zellen. Stets sind aber Zellextrakte und bestimmte Zellfragmente für die Durchführung einer Proteinsynthese *in vitro* notwendig. Es ist freilich zunächst, wie aus dem Vortrag von B. A. A s k o n a s (London) hervorgeht, gar nicht immer leicht, eine Proteinsynthese *in vitro* zweifelsfrei festzustellen. Die Versuche werden stets mit radioaktiv markierten Aminosäuren durchgeführt, wobei dann festgestellt wird, ob die radioaktiv markierten Aminosäuren in die am Ende des Versuches vorliegenden Proteine eingebaut sind. Es ist jedoch gar nicht leicht, festzustellen, ob dabei die Radioaktivität wirklich in biologisch aktiven Proteinen sitzt, oder ob nicht etwa eine unspezifische Aneinanderreihung von Aminosäuren stattgefunden hat. Ferner könnte der Fall eintreten, daß an ein bereits fertig vorgelegenes Protein nachträglich einige radioaktive Aminosäuren angehängt wurden, was natürlich nicht mit einer vollständigen Proteinsynthese gleichbedeutend ist. Alle diese Schwierigkeiten gilt es zu berücksichtigen, wenn die Proteinsynthese *in vitro* untersucht werden soll. Die wohl aufschlußreichste Mitteilung über die Biosynthese von Proteinen gab M. B. H o a g l a n d (Boston). Der Arbeitsgruppe um Hoagland sowie einigen anderen Arbeitsgruppen ist vor einiger Zeit ein wichtiger Fortschritt gelungen. Sie konnten das System, das für die Biosynthese der Proteine verantwortlich ist, in zwei Komponenten aufspalten, nämlich in eine Garnitur wasserlöslicher Enzyme und in eine bestimmte Fraktion von abzentrifugierbaren Partikeln. Diese Partikel gehören in jene Fraktion, die von den Biochemikern im allgemeinen als Mikrosomen bezeichnet wird. Die Zellphysiologen wollen allerdings als Mikrosomen bestimmte mikroskopisch sichtbare Teilchen bezeichnet wissen, wie es der in der botanischen Zellphysiologie seit langem üblichen Terminologie entspricht, und die submikroskopischen Partikel, um die es sich hier handelt, Meiosomen nennen (vgl. H ö f l e r 1957, S i t t e 1958). Leider existiert auf diesem Gebiet eine unangenehme terminologische Zweigleisigkeit. Zu dem Arbeiten mit Teilchen, die durch Homogenisation von Zellen und anschließende fraktionierte Zentrifugierung gewonnen werden, ist noch folgendes zu bemerken: Es herrscht unter den Zellphysiologen, die gewohnt sind, mit lebenden Zellen zu arbeiten, eine gewisse Skepsis gegenüber dieser Arbeitsweise. Tatsächlich wird diese Methode sehr oft äußerst unbedenklich angewandt und zum Teil von solchen Biochemikern, die mit dem Bilde einer lebenden Zelle im Mikroskop nur sehr wenig vertraut sind. Die Alteration, die die betreffenden Teilchen bei der Zertrümmerung der Zellen erleiden, wird meist zu gering eingeschätzt (P e r n e r und P f e f f e r k o r n 1953). So würde wohl ein großer Teil der biochemischen Arbeiten, die angeblich mit reinen Mitochondrien, mit reinen Mikrosomen, mit reinen Zellkernen gemacht wurden, einer genauen Prüfung nicht standhalten. Auch hier gilt es, wie schon eingangs erwähnt, die sorgfältigen von den bedenkenlosen Experimentatoren mit einem gewissen Fingerspitzengefühl zu unterscheiden. H o a g l a n d sagt an einer Stelle: „Were are in fact straining to hear the last words from the lips of these dying particles.“ Wenn nun ein Forscher die Situation so klar sieht, daß er die Reaktionen, die er an den Teilchen beobachtet, mit den letzten Worten von den Lippen eines Sterbenden vergleicht, dann ist anzunehmen, daß auch seine übrigen Angaben Vertrauen verdienen.

Nach H o a g l a n d besteht nun das für die Biosynthese der Proteine

verantwortliche System aus folgenden Komponenten: 1. die Aminosäuren selbst, aus denen das Protein gebaut werden soll, 2. Adenosintriphosphat als Energielieferant, 3. ein System von löslichen Enzymen, die sogenannten pH-5-Enzyme, 4. eine lösliche Ribonucleinsäure, 5. bestimmte abzentrifugierbare Zellfragmente, die ebenfalls Ribonucleinsäure enthalten, und 6. für den letzten Schritt der Reaktion Guanosintriphosphat. Die unter 5 genannten Partikel sind überall gefunden worden, wo man ernstlich nach ihnen gesucht hat, und zwar sowohl bei Tieren als auch bei höheren Pflanzen als auch bei Bakterien. Es liegen zwar Angaben vor, daß Aminosäuren auch in Mitochondrien und Zellkerne eingebaut werden. Doch ist Hoag-

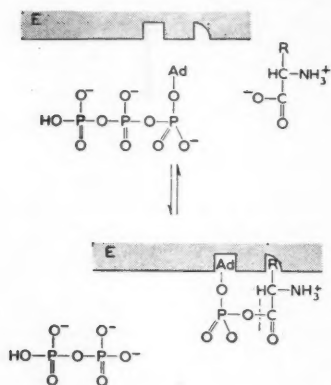


Abb. 11. Aktivierung von Aminosäuren (nach Hoagland).

land der Ansicht, daß die hier Mikrosomen genannten Teilchen der Hauptsitz der Proteinsynthese sind. Der erste Schritt der Proteinsynthese besteht in einer Aktivierung der Aminosäuren. Während nun in der Kohlehydratchemie die Aktivierung der reagierenden Moleküle durch Anhängen eines Phosphatrestes erfolgt, geschieht hier die Aktivierung anders. Wohl ist auch hier das Adenosintriphosphat der Lieferant der Energie, aber die Aktivierung des Aminosäuremoleküls geschieht nicht durch Anfügen eines Phosphatrestes, sondern durch Anhängen des anderen Teiles des ATP-Moleküls, nämlich des AMP. Die Abbildung 11 zeigt, an welcher Stelle das Nucleotid an die Aminosäure gehängt wird, wobei zugleich angedeutet wird, daß dieser Vorgang an der Oberfläche eines Enzymmoleküls

stattfindet. Der nächste Schritt besteht nach Hoagland in einer Überführung der aktivierten Aminosäure auf eine lösliche Ribonucleinsäure. Dies ist eine unerwartete, neue Zwischenstufe. Die Übertragung geschieht direkt durch das gleiche Enzym, das auch die Aktivierung der Aminosäure durchführt. Die Aminosäure wird auf diese Weise durch eine kovalente Bindung an das Ribonucleinsäuremolekül angeheftet. Es handelt sich um eine umkehrbare Reaktion. Die RNS, an der dieser Vorgang stattfindet, scheint eine spezielle RNS von recht niedrigem Molekulargewicht zu sein. Einige Beobachtungen lassen darauf schließen, daß für jede Aminosäure eine besondere Acceptor-RNS vorliegt. Der entscheidende Schritt zur Synthese des Proteinmakromoleküls erfolgt dann an den genannten Partikeln. Der Komplex aus Aminosäure und löslicher Ribonucleinsäure wird in die Partikel eingefügt, wobei Protein entsteht. Zu diesem Vorgang ist interessanterweise Guanosintriphosphat notwendig. Die Aminosäuren werden dabei nicht frei und auch die Nucleinsäuren, die mit den Aminosäuren verbunden sind, werden mit in das Partikel eingebaut, das ebenfalls RNS enthält. Lösliche Ribonucleinsäure, die keine Aminosäuren gebunden hat, wird nicht in die „Mikrosomen“ aufgenommen. Wie die Mechanik dieses Vorganges im einzelnen verläuft, vor allem in demjenigen Stadium, das zum Aufbau des Makromoleküls führt, ist noch ganz unklar. Jedenfalls ist aber schon deutlich, daß der ganze Vorgang weitaus komplizierter ist, als

man anfänglich dachte. Hoagland spricht die Vermutung aus, daß die lösliche Ribonucleinsäure (Komponente 4) als Adapter wirkt, das heißt, sie ermöglicht den bei der Synthese beteiligten Partikeln vielleicht, die jeweils notwendigen Aminosäuren richtig auszuwählen. Es könnte sein, daß die Ribonucleinsäuremoleküle, an denen die aktivierten Aminosäuren gebunden werden, irgendwelche strukturellen Eigentümlichkeiten besitzen, die eine Aneinanderreihung der Aminosäuren in der richtigen Reihenfolge erleichtern.

R. B. Loftfield (Boston) diskutierte in seinem Vortrag die physikalisch-chemischen Voraussetzungen, die dazu notwendig sind, daß aus einem Aminosäuregemisch die jeweils richtige Aminosäure an den richtigen Platz des proteinsynthetisierenden Systems gelangt.

Von den übrigen proteinchemischen Arbeiten kann nur einiges Wenige erwähnt werden. H. Theorell (Stockholm) berichtete über neuere Ergebnisse auf dem Gebiet der Flavoproteine. B. L. Vallee (Boston) hielt einen umfangreichen Vortrag über die Metalloenzyme. Für den Protoplasmatiker ist vielleicht noch eine Arbeit von E. H. Fischer (Washington) und Mitarbeitern interessant, der sich mit den Beziehungen des Calciums zu der molekularen Struktur von Amylasen befaßt. Alle von den Autoren untersuchten Amylasen enthielten Calcium. Es läßt sich durch bestimmte chemische Maßnahmen aus dem Molekül entfernen. Dabei wird interessanterweise das Enzymmolekül äußerst instabil. Es ist dann nur mehr unter optimalen Bedingungen existenzfähig und wird bei der leisensten chemischen oder thermischen Beanspruchung denaturiert, im calciumhaltigen Zustand ist es viel widerstandsfähiger. Der Zellphysiologe wird hierbei an ganz ähnliche Eigenschaften des Plasmalemmas der Pflanzenzelle denken, das ebenfalls im calciumfreien Zustand äußerst labil ist. Vielleicht existieren hier tatsächlich Parallelen.

Besonders große Fortschritte machte in der letzten Zeit die Erforschung der biosynthetischen Mechanismen für eine Reihe sekundärer Pflanzenstoffe, z. B. der Anthocyane und verwandter Verbindungen (H. Grisebach, Freiburg) sowie der Terpene (W. Sandermann, Hamburg). Das wichtigste Hilfsmittel sind hierbei die radioaktiven Isotopen. Entweder man läßt die Pflanzen radioaktives  $\text{CO}_2$  assimilieren oder man appliziert in geeigneter Weise radioaktiv markierte Vorstufen und stellt dann durch Analyse der Endprodukte die Lage der radioaktiven Kohlenstoffatome fest. Dies ist zwar eine sehr mühevoll, aber fast vollkommen sichere Methode, um die Reaktionsketten, die zu einem bestimmten Stoff führen, aufzudecken.

Hier sei als Beispiel die Biosynthese der Terpene herausgegriffen, über die W. Sandermann (Hamburg) ausführlich berichtete. Schon vor vielen Jahrzehnten, als die Strukturformeln der ätherischen Öle und Harz-

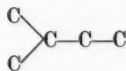


Abb. 12. C-Gerüst des Isopentan-Bausteines der Terpene.

säuren, der Carotinoide, des Kautschuks und der Sterine bekannt wurden, fiel die Verwandtschaft dieser Verbindungen auf, die sich in einer steten Wiederkehr des Isopentan-Bausteines (Abb. 12) äußerte. Wallach (1897)

sprach seinerzeit die Vermutung aus, daß alle diese Stoffe durch eine Polymerisation des Isopren (Abb. 13) entstanden sein könnten. Dieser Ansicht

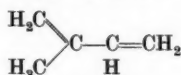


Abb. 13. Isopren.

stand jedoch die Tatsache entgegen, daß Isopren in der Natur niemals aufgefunden werden konnte. So blieb diese Frage lange Zeit hindurch in

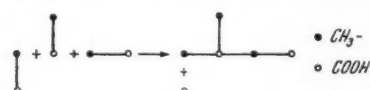


Abb. 14. Verteilung der Methyl- und Carboxylgruppen der Essigsäure im Isopentenyl-Baustein der Terpene (nach Sander mann).

Schwebe. In den letzten Jahren ist man nun ihrer Lösung ein großes Stück näher gekommen: die Biogenese des Isopentenyl-Bausteines wurde im wesentlichen geklärt. Es stellte sich heraus, daß das besagte Kohlenstoffgerüst durch Zusammenlagerung von drei Molekülen Essigsäure entsteht. Man schloß aus

Versuchen mit radioaktiv markiertem Azetat, daß die in Abb. 14 als Kreise gezeichneten Atome des Isopentenylgerüsts aus den Methylgruppen der Essigsäure stammen, die als Punkte ge-

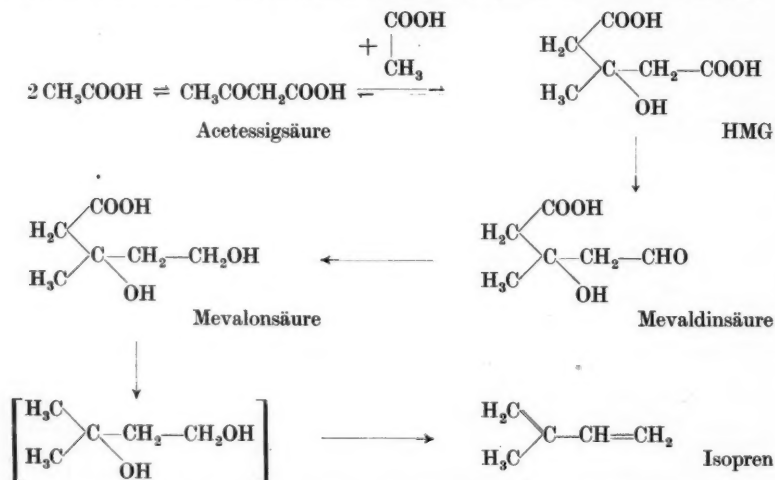


Abb. 15. Vermutlicher Reaktionsweg bei der Biosynthese des  $\text{C}_5$ -Bausteines der Terpene (nach Sander mann, etwas verändert. Der rein hypothetische, in eckige Klammern gesetzte Alkohol wurde vom Referenten eingefügt).

zeichneten Atome hingegen aus den Carboxylgruppen. Wie ersichtlich, findet bei dem Vorgang eine Decarboxylierung statt.

Als Reaktionsmechanismus wird der folgende angegeben (Abb. 15), wobei erwähnt werden muß, daß die Essigsäure nur dann in der dargestellten Weise reagiert, wenn sie durch Bindung an das Coenzym A aktiviert ist und



wenn gleichzeitig das entsprechende Enzym zugegen ist. Zunächst werden zwei Moleküle aktiviertes Azetat in einer schon seit langem bekannten Reaktion zu Azetazetat kondensiert, dann wird das dritte Molekül Azetat

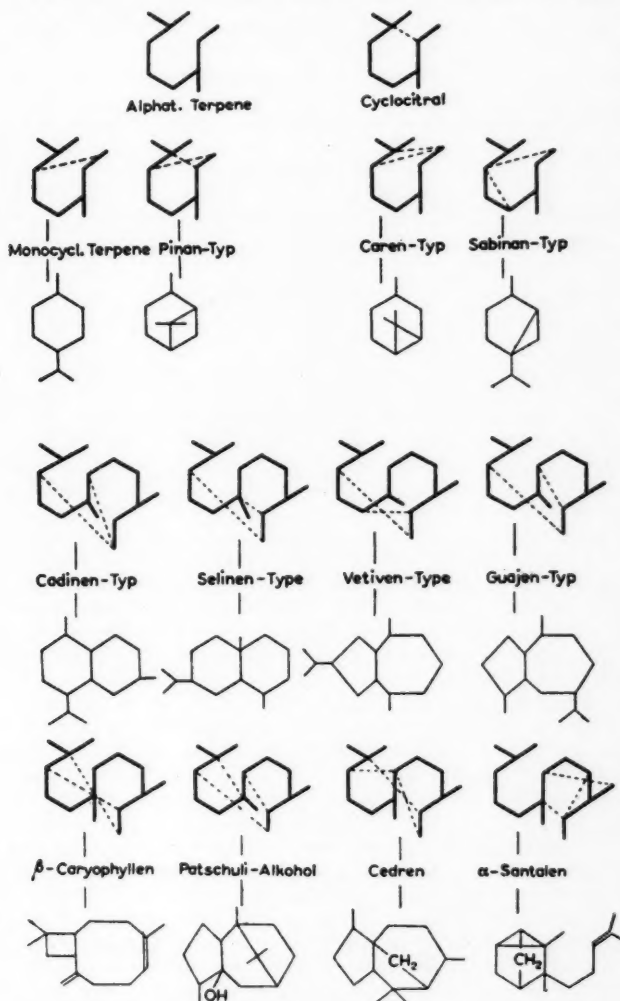


Abb. 16. Konventionelle und „biogenetische“ Formeln für einige Mono- und Sesquiterpene (nach Sander mann).

seitlich angefügt, das entstehende Produkt wäre als Hydroxy-Methyl-Glutar säure (HMG) zu bezeichnen. Durch Reduktion einer Carboxylgruppe zur Aldehydgruppe entsteht die Mevaldinsäure, durch weitere Reduktion zu

einer  $\text{CH}_2\text{OH}$ -Gruppe die Mevalonsäure. Von dieser letzteren Säure ist es sichergestellt, daß sie ein echtes Zwischenprodukt der Terpensynthese ist. Der weitere Weg ist noch hypothetisch. Man erkennt auf dem Reaktionsschema, daß aus der Mevalonsäure durch Decarboxylierung ein Alkohol entstehen würde, der bereits das Kohlenstoffgerüst des Isoprens aufweist. Durch Abspaltung von zwei Molekülen Wasser könnte dieser Alkohol in Isopren überführt werden. Einige Autoren sind denn auch der Meinung, daß Isopren tatsächlich als Zwischenprodukt entsteht. Demgegenüber möchte der Referent auf die nach wie vor bestehende Tatsache hinweisen, daß Isopren noch niemals in der Natur aufgefunden worden ist. Sollte etwa doch der Alkohol, der aus der Mevalonsäure durch Decarboxylierung entsteht, eine Rolle spielen? Sicher weiß man nur, daß bei den von der Mevalonsäure ausgehenden weiteren Reaktionsschritten eine Phosphorylierung stattfindet.

Die große Mannigfaltigkeit der in der belebten Natur gefundenen Terpenverbindungen muß nun so zustande kommen, daß eine mehr oder weniger große Zahl von  $\text{C}_5$ -Bausteinen in verschiedener Weise aneinandergesetzt

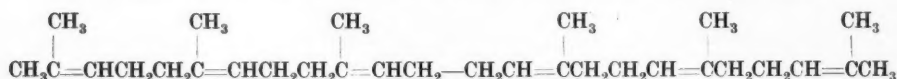


Abb. 17. Squalen.

wird. Es wird noch zu untersuchen sein, welche von diesen Reaktionen spontan und welche enzymatisch gelenkt ablaufen. Abb. 16 zeigt in übersichtlicher Weise die Verwandtschaft einer Anzahl von Mono- und Sesquiterpenen. Dabei ist für jeden Typus außer der herkömmlichen Strukturformel noch eine „biogenetische“ Formel gegeben: Es werden in den kettenförmigen Kohlenwasserstoff, der durch Aneinanderfügung von zwei bzw. drei Isopren-Bausteinen entsteht, diejenigen zusätzlichen Bindungen eingezeichnet, deren Zustandekommen das betreffende Molekülgerüst herstellt. Auch die Biogenese komplizierterer Terpene, wie der Harzsäuren und der Carotinoide, ist nun grundsätzlich verständlich, wenn auch viele Einzelheiten noch der Aufklärung harren. Besonders groß ist aber die Genugtuung darüber, daß nun auch das bis vor kurzem ganz rätselhafte Molekülskelett der Sterine aus bekannten Verbindungen abgeleitet werden konnte. Schon lange war eine Verwandtschaft mit den Terpenen vermutet worden, nun konnte sie erwiesen werden. Unmittelbare Vorstufe scheint hier der Terpenkohlenwasserstoff Squalen (Abb. 17) zu sein, dessen Entstehung aus dem  $\text{C}_5$ -Baustein die Abb. 18 darstellt. Von diesem Squalen aus wird nun nach den neuen Vorstellungen in einer einzigen, enzymatisch gelenkten Reaktionskette, die mehrere Bindungsumlagerungen umfaßt, das eigenartige Kohlenstoffgerüst der Sterine gebildet (Abb. 19). Voraussetzung dazu ist natürlich, daß die lange Kohlenstoffkette des Squalen vorher in einer ganz bestimmten Weise gefaltet wird, so daß die Kohlenstoffatome, die später miteinander reagieren sollen, einander räumlich nahegebracht werden. Es ergeben sich von hier aus interessante Fragen bezüglich der räumlichen Struktur der beteiligten Enzymmoleküle, in denen ja die innere Ordnung des Sterinmoleküls irgendwie vorgebildet sein muß. Es sei ferner daran erinnert, daß die meisten Terpene ausgesprochen lipophile Substanzen sind, während doch die zu ihrer Bildung nötigen Enzyme, nach unseren bisherigen Kenntnissen, im allgemeinen an eine wäßrige Phase gebunden sind. Hier müssen Grenzflächenvorgänge zwischen wäßrigen und lipoiden Phasen des Proto-

plasmas beteiligt sein, die uns noch manches Rätsel aufgeben werden. Wir wollen uns aber durch diese vielen noch offenen Probleme nicht davon abhalten lassen, uns über das bisher Erreichte aufrichtig zu freuen.

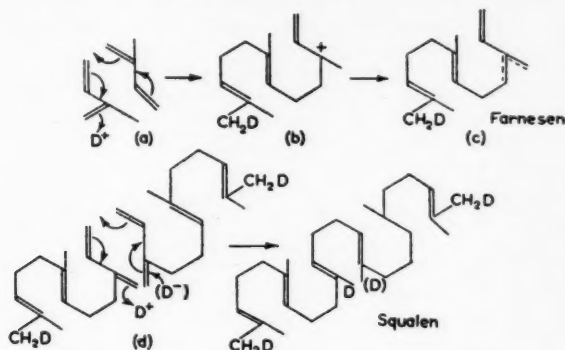


Abb. 18. Biosynthese von Squalen in  $D_2O$  (nach Bloch aus Sandermann).

Einige interessante Arbeiten behandeln den Phosphathaushalt von Hefe und anderen Pilzen. Die Ergebnisse sind hier deshalb besonders vertrauenerweckend, weil drei verschiedene Arbeitsgruppen zu Ergebnissen gekommen sind, die im wesentlichen übereinstimmen. Zwei dieser

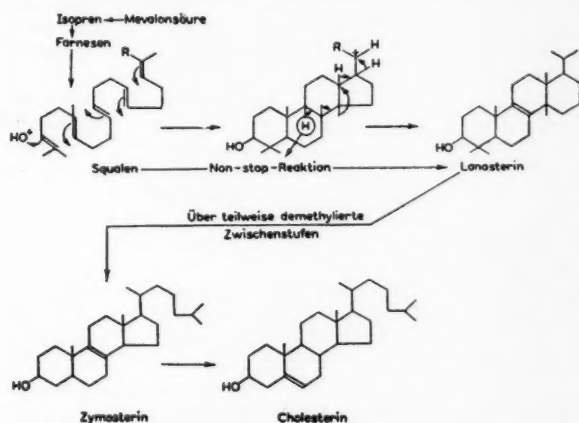


Abb. 19. Biogenese des Cholesterin (aus Sandermann).

Arbeitsgruppen sind in Berlin tätig (F. Windisch, H. Bauer und E. Herfurt sowie P. Langen und E. Liss), die dritte unter Leitung von A. N. Belosersky in Moskau.

Zunächst konnte erwiesen werden, was schon lange vermutet worden war: Die Phosphataufnahme der Hefe ist keine einfache Permeation, sondern ein aktiver Aufnahmeporgang, sie ist nämlich durch 2,4-Di-

nitrophenol hemmbar und streng an die Gegenwart von Sauerstoff gebunden — interessanterweise auch bei fakultativ anaeroben Organismen.

Wichtig ist die Beobachtung, daß das aufgenommene Orthophosphat rasch in eine polymere Form, das sogenannte Polyphosphat, verwandelt wird. Das Polyphosphat entspricht jener Verbindung, die früher meist als Metaphosphat bezeichnet wurde und die die Summenformel  $\text{HPO}_3$  besitzt. Die Formel heißt richtig  $(\text{HPO}_3)_n$  und die Verbindung entsteht aus vielen Molekülen Orthophosphat durch Wasserabspaltung (Abb. 20). Die Bildung von Polyphosphat aus Orthophosphat ist ein endergoner (endothermer), Energie verbrauchender Vorgang.



Abb. 20. Entstehung von Polyphosphat aus Orthophosphat (nach Hollemann-Wiberg 1952).

Die physiologische Bedeutung dieser Speicherungsform könnte unter anderem in der Vermeidung einer osmotischen Belastung der Zelle liegen. (Es werden unter Umständen ziemlich große Mengen von Phosphat gespeichert.) Vielleicht stellt das Polyphosphat aber auch eine Energie-



Abb. 21. Der Phosphatkreislauf in niederen Pilzen (nach Belosersky).

reserve der Zelle dar. Es kommt in einer säurelöslichen und einer säureunlöslichen Form vor, in welcher letzterer es an RNS gebunden sein und im Dienste des Protein- oder Nucleinsäurestoffwechsels stehen soll. Windisch weist das Polyphosphat, das in der Zelle in Form von Granulis auftritt, durch Färbung mit Methyleneblau und Trypaflavin unter dem Mikroskop nach. (Diese Polyphosphate stehen ziemlich sicher mit dem in der älteren Literatur als Volutin bezeichneten Zellinhaltsstoff in Beziehung. Anm. d. Ref.)

Die genannten Autoren schließen nun aus ihren Befunden, daß sich im Anschluß an die Synthese der Polyphosphate ein Fließ-

gleichgewicht zwischen diesen und ihren niedriger polymeren Homologen einstellt (Abb. 21). Dieses Gleichgewicht wird durch verschiedene physiologische Vorgänge nach bestimmten Richtungen verschoben, wie dies zum Teil aus der Abbildung hervorgeht. Auch der Zusatz verschiedener Salze zum Kulturmedium hat einen starken und je nach der Art des Salzes wechselnden Einfluß auf diesen Phosphatkreislauf. Wichtig ist ein Befund über einen Zusammenhang des Phosphatstoffwechsels mit dem Energiestoffwechsel: Werden die energieliefernden Dissimilationsvorgänge stillgelegt (entweder durch Jodazetat oder Urethan), dann hört die Synthese von Polyphosphat aus Orthophosphat auf und das vorhandene Polyphosphat wird rascher als

sonst abgebaut. Von dieser Beobachtung her gewinnt die Vermutung, daß die Polyphosphate der Zelle auch als Energiereserve dienen können, stark an Wahrscheinlichkeit.

Ein Vortrag von R. L. Post und R. Merritt (Nashville, Tennessee) befaßt sich mit der Aufnahme von Kalium und Natrium in menschliche Erythrocyten. Obwohl es sich hier also um kein botanisches Versuchsobjekt handelt, soll die Arbeit hier erwähnt werden, weil sie zellphysiologisch recht interessant ist. Die Autoren geben an, daß an dem genannten Objekt eine aktive und eine passive Ionenaufnahme nebeneinander vor sich gehen. Sie konnten diese beiden Vorgänge dadurch trennen, daß sie die aktive Aufnahme unterbanden. Dies soll durch folgende Maßnahmen bewirkt werden können: 1. Durch Einwirkung des Steroidalkaloides Ouabain (Abb. 22). 2. Durch Sistierung des Energiestoffwechsels infolge Inkubation ohne Atmungssubstrat. 3. Durch Verwendung

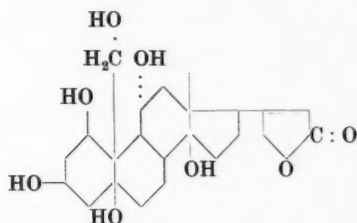


Abb. 22. Aglykon des Ouabain (nach S n a t z k e 1956).

von „ungekoppelten“ Zellen („unlinked cells“), die entweder nur Natrium oder nur Kalium enthalten, in einem Cholin-Medium. Der aktive Transportmechanismus für Natrium und Kalium soll nämlich nach Post und Merritt nur dann arbeiten, wenn beide Ionen zugegen sind. Es wäre interessant, ähnliche Untersuchungen an einem botanischen Objekt anzustellen.

Ein Musterbeispiel einer ausgeprägt pflanzenphysiologisch orientierten Biochemie bildete der Vortrag von K. Mothes (Halle). Er berichtete über den Stoffwechsel bewurzelter Blattstecklinge, hauptsächlich von Tabakpflanzen. Durch die Isolierung wird das Auftreten der charakteristischen Alterserscheinungen, die die an der Pflanze befindlichen ausgewachsenen Blätter zeigen, verhindert. Vor allem vergilben die Blätter nicht, sondern sie bleiben grün und zeigen mehrere Monate hindurch ein bedeutendes Wachstum, das allerdings nicht auf Zellteilungen, sondern nur auf einer Vergrößerung der bereits vorhandenen Zellen beruht. Die Proteine und Nucleinsäuren werden sehr gleichmäßig vermehrt. Besonders bezeichnend für den Stoffwechsel der Blattstecklinge ist die hemmungslose, ungesteuerte Stoffaufnahme- und Synthesetätigkeit der Wurzeln. Dadurch kommt es unter optimalen Ernährungsbedingungen zu einer außergewöhnlich starken Anhäufung von Produkten dieser Wurzeltätigkeit, vor allem von stickstoffhaltigen Substanzen, in den Blättern. Mothes hält es für wahrscheinlich, daß diese Akkumulation einen Faktor jenes Komplexes darstellt, der das physiologische Altern bedingt. Wohl zu unterscheiden von diesem „physiologischen Altern“ ist das Altern eines an der

Pflanze befindlichen Blattes, das im wesentlichen auf Konkurrenz beruht, also auf Stoffentzug seitens der Knospen, der Blüten und reifenden Früchte sowie der noch wachsenden jungen Blätter.

Einige beachtenswerte Fortschritte wurden auch auf dem Gebiet der Photosyntheseforschung erzielt. Leider war auf dem Kongreß hierfür kein größerer Rahmen vorgesehen, so daß die Ergebnisse in zwei kleinen Sektionsvorträgen mitgeteilt werden mußten (D. I. Arnon sowie A. V. Trebst, H. Y. Tsujimoto und D. I. Arnon, alle in Berkeley, Californien).

Es kann nunmehr mit Sicherheit gesagt werden, daß die Chloroplasten den zum gesamten Photosynthesevorgang bis auf das Niveau der Kohlehydrate nötigen Apparat enthalten und auf keine Mitwirkung anderer Zellteile angewiesen sind. Einige interessante Angaben beziehen sich auf die Lokalisation der beiden Hauptteile der Photosynthese, nämlich der photochemischen Wasserspaltung einerseits und der  $\text{CO}_2$ -Fixierung (Dunkelreaktion) andererseits: Man kann isolierte Chloroplasten in Bruchstücke zerschlagen (allerdings nicht beliebig weit, vgl. Thomas, Blauw und Duysens 1953), ohne ihre photosynthetischen Fähigkeiten zu vernichten. Belichtet man nun solche zerschlagenen Chloroplasten in einer  $\text{CO}_2$ -freien Lösung, zentrifugiert die Chloroplastenfragmente dann ab und fügt im Dunkeln radioaktiv markiertes  $\text{CO}_2$  sowie katalytische Mengen von Hexosephosphat hinzu, dann kann man eine Bildung von radioaktivem Zucker nachweisen. Dieser letztere Vorgang findet nur dann statt, wenn vorher in der Lösung Chloroplastenteile belichtet wurden. Es muß also einerseits aus den zerschlagenen Chloroplasten ein Enzymsystem herausdiffundiert sein, das die  $\text{CO}_2$ -Fixierung und die Synthese von Kohlehydraten zu vollziehen vermag, andererseits müssen die belichteten Chloroplasten bestimmte Substanzen ausscheiden, die das lösliche Enzymsystem erst zu seinen Leistungen befähigen. Diese von den belichteten Chloroplasten ausgeschiedenen Substanzen wurden zunächst, als ihre Zusammensetzung noch unbekannt war, von Arnon als „assimilatory power“ bezeichnet. Später stellte sich heraus, daß es sich dabei um ein Gemisch von TPNH und ATP handelt. Diese Substanzen sind also die Endprodukte der Lichtreaktion (Wasserspaltung) und werden für die Dunkelreaktion benötigt. Arnon formuliert die Lichtreaktion folgendermaßen:  $4\text{H}_2\text{O} + 2\text{TPN}^+ + 2\text{H}_3\text{PO}_4 + 2\text{ADP} \xrightarrow{\text{Licht}} 2\text{TPNH} + 2\text{ATP} + \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$ . Bei dieser Darstellungsweise werden allerdings zwei Vorgänge miteinander vermengt, die man besser auseinanderhalten sollte. Es sei hier an das Schema erinnert, das Pirsón (1955, S. 550) wiedergegeben hat und das im wesentlichen immer noch gültig ist:

Am Anfang der Reaktionsfolge steht eine Spaltung des Wassers in (hypothetische) H- und OH-Radikale. Von diesen ausgehend, gibt es nun zwei Möglichkeiten: entweder es findet eine Rückreaktion dieser beiden Produkte statt, wobei (ähnlich wie bei der Atmungskette) ATP gebildet wird, oder der intermediäre „Photowasserstoff“ wird auf ein Coenzym ( $\text{TPN}^+$ ) übertragen, während eine äquivalente Menge des anderen Wasserspaltproduktes („[OH]“) zu  $\text{O}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  dismutiert wird. Im belichteten Chloroplasten gehen nun wohl diese beiden Vorgänge nebeneinander vor sich, weil, wie erwähnt, unter den Endprodukten der Lichtreaktion sowohl das reduzierte Coenzym (TPNH) als auch ATP aufscheinen. Diese beiden Verbindungen werden dann in der Dunkelreaktion benötigt, um das in organischer Bindung fixierte  $\text{CO}_2$  auf das Kohlehydratniveau zu reduzieren.



Von diesem letzteren Vorgang (Calvin-Zyklus) war am diesjährigen Kongress nicht die Rede.

Arnon zieht aus seinen Versuchsergebnissen den wichtigen Schluß, daß die Dunkelreaktion von einem extrahierbaren Enzymsystem durchgeführt wird, das vielleicht im Stroma der Plastiden seinen Sitz hat, während die Lichtreaktion unbedingt an die für die Plastiden charakteristischen Strukturen gebunden ist. Arnon nimmt als Hauptsitz der Lichtreaktion die Grana an. Hier dürfte die innige Verknüpfung von Struktur und Funktion, die im Bereich des Lebendigen immer wieder auftritt, in besonders hervorragender Weise verwirklicht sein.

Werden zu einem Reaktionsansatz mit belichteten Chloroplasten winzige Mengen (0,001 Mikromol) von FMN (Flavinmononucleotid), Vitamin K oder Phenazinmethosulfat hinzugefügt, dann wird die eine der beiden Komponenten der Lichtreaktion, nämlich die Bildung von ATP, stark gefördert. Bei Anwesenheit größerer Mengen der genannten Reagenzien wird diese Reaktion überhaupt vorherrschend und wird die andere Komponente, nämlich die Bildung von reduziertem Coenzym (TPNH) und damit auch die Bildung von  $O_2$  ganz unterdrückt. Die Reaktionsgleichung sieht dann folgendermaßen aus:



Bei diesem Vorgang wird natürlich auch kein  $CO_2$  in Kohlehydrat verwandelt. Dieser Befund scheint dem Referenten außerordentlich wichtig zu sein, weil er zeigt, daß die Pflanze auch dann mit dem einfachen Licht etwas anfangen kann, wenn ihr durch irgendwelche Umstände kein  $CO_2$  zur Verfügung steht (die notwendigen Katalysatoren FMN bzw. Vitamin K sind ja aller Wahrscheinlichkeit nach regelmäßige Bestandteile der grünen Pflanzen). Es braucht vielleicht in diesem Falle nicht die Atmung zur Aufrechterhaltung des Energiestoffwechsels eingesetzt zu werden, weil ja das eigentliche Produkt der Atmung, der Energieträger ATP, in der Lichtreaktion direkt gebildet wird.

\*

Wenn nun der Leser dieses Berichtes alle die vielen mitgeteilten Einzelheiten des biochemischen Geschehens überdenkt, dann kann es leicht geschehen, daß er verwirrt wird und den Blick auf das Ganze verliert. In noch höherem Maße bestand diese Gefahr für den Besucher des Kongresses selbst. Dagegen gibt es ein probates Mittel: Man setze sich ans Mikroskop und betrachte eine lebende Zelle. Nun ist die Ganzheit wieder da, wir können sie unmittelbar erleben und es ist schade, daß sich vor allem die Biochemiker diesem Erlebnis so selten hingeben. Freilich, die Betrachtung einer Zelle ist nicht immer ein reiner Genuß. Gerade deshalb nämlich, weil wir nun so viel wissen von der kaum überblickbaren Vielfalt der Vorgänge, die Voraussetzung des Lebens sind, hat der Anblick einer lebenden Zelle für einen Menschen, der nicht ganz gefühllos ist, etwas Entwaffnendes in sich. Hier gehen alle Vorgänge, deren Enträtselung uns so viel Schweiß kostet, in einer so selbstverständlichen, gelassenen Harmonie vor sich, daß man dabei wügend — oder bescheiden werden kann. Wir wollen uns für die letztere dieser Empfindungen entscheiden, denn die Ehrfurcht vor dem Lebendigen, vor dem, was wir nicht gemacht haben, ist in gewissem Sinne ein Fundament fruchtbarer naturwissenschaftlicher Arbeit: sie rückt nämlich das Verhältnis zwischen unserer Person und den Objekten unserer Forschung ins rechte Licht und verleiht unserer Arbeit erst ein menschliches Antlitz.

## Literatur

## A. Kongreßvorträge

- Alexander, P., und K. A. Stacey: Modification of DNA by Ionizing Radiations and Mutagenic Chemicals. Vortrag vom 5. September im Symposium IX (Physikalische Chemie biologisch wichtiger Hochpolymerer).
- Araki, C.: Seaweed Polysaccharides. Vortrag vom 1. September im Symposium I (Kohlehydratchemie biologisch wichtiger Substanzen).
- Arnon, D. I.: The Chloroplast as a Functional Unit in Photosynthesis. Vortrag vom 2. September in der Sektion 11 (Biochemie der Pflanzen).
- Askonas, B. A., J. L. Simkin und T. S. Work: Protein Synthesis in Cell-free Systems. Vortrag vom 5. September im Symposium VIII (Proteine).
- Beers, R. F.: Studies with Acridine Orange of the Polynucleotide Phosphorylase System. Vortrag vom 5. September in der Sektion 3.
- Belosersky, A. N.: Polyphosphates, Their Formation and Significance for the Development of Certain Lower Organisms. Vortrag vom 5. September in der Sektion 3 (Chemie und physikalische Chemie der Nucleoproteine und Nucleinsäuren).
- Broda, E.: Biochemie der Viren. Ein Bericht über das Symposium VII (6. September).
- Butler, J. A.: The heterogeneity of Nucleic Acids. Vortrag vom 5. September im Symposium IX.
- Fischer, E. H., W. B. Summerwell, J. Junge und E. A. Stein: Calcium and the Molecular Structure of  $\alpha$ -Amylases. Vortrag vom 3. September im Symposium VIII.
- Grisebach, H.: Biosynthese der Anthozyane. Vortrag vom 1. September im Symposium II (Biochemie des Holzes).
- Hall, C. E.: Electron Microscopic Investigations of DNA, RNA and Polynucleotides. Vortrag vom 3. September im Symposium IX.
- Hirst, E. L.: Plant Gums. Vortrag vom 1. September im Symposium I.
- Hoagland, M. B.: Enzymatic Reactions between Amino Acids and Ribonucleic Acids as Intermediate Steps in Protein Synthesis. Vortrag vom 5. September im Symposium VIII.
- Langen, P., und E. Liss: Über den Polyphosphat-Stoffwechsel der Hefe. Vortrag vom 5. September in der Sektion 3.
- Loftfield, R. B.: Physico-Chemical Aspects of Protein Biosynthesis. Vortrag vom 5. September im Symposium VIII.
- Mothes, K.: Über den Verjüngungs- und Alterungsstoffwechsel von Blattstetlingen. Vortrag vom 3. September in der Sektion 11.
- Post, R. L., und C. R. Merritt: Separation of Active and Passive Sodium and Potassium Transport Across the Human Erythrocyte Membrane. Vortrag vom 6. September in der Sektion 6 (Biochemie der Zelle).
- Sandermann, W.: Biogenese der Terpene und Terpenoide. Vortrag vom 1. September im Symposium II.
- Schramm, G.: Biosynthese des Tabakmosaikvirus. Vortrag vom 1. September im Symposium VII.
- Steiner, R. F., und R. F. Beers: Complexing of Dyes with Nucleic Acids. Vortrag („read by title“) vom 5. September in der Sektion 3.
- Theorell, H.: Modern Trends in Flavoprotein Research. Vortrag vom 3. September im Symposium VIII.

- Trebst, A. V., H. Y. Tsujimoto und D. I. Arnon: Photosynthetic Carbon Assimilation in the Dark by Chloroplast Extracts. Vortrag vom 2. September in der Sektion 11.
- Vallee, B. L.: Metallo-Enzymes; Correlation of Composition, Structure and Function. Vortrag vom 3. September im Symposium VIII.
- Whistler, R. L.: Hemicelluloses. Vortrag vom 1. September im Symposium I.
- Windisch, F., H. Bauer und E. Herfurt: Biochemismus des Phosphatwechsels zwischen Cytoplasma und umgebendem Medium. Vortrag vom 6. September in der Sektion 6.

#### B. Andere zitierte Arbeiten

- Haas, J., 1955: Physiologie der Zelle. Berlin.
- Höfler, K., 1957: Mikrosomen und Meiosomen. *Protoplasma* 48, 167.
- Hollemann, A. F., und E. Wiberg, 1952: Lehrbuch der anorganischen Chemie, 51. Aufl., Berlin.
- Perner, E. S., und G. Pfefferkorn, 1953: Pflanzliche Chondriosomen im Licht- und Elektronenmikroskop unter Berücksichtigung ihrer morphologischen Veränderungen bei der Isolierung. *Flora* 140, 98.
- Pirson, A., 1955: Stoffwechsel organischer Verbindungen I (Photosynthese). *Fortschritte der Botanik* 17, 529.
- Schramm, G., 1957: Aufbau und Vermehrung phytopathogener Viren. *Nova Acta Leopoldina* 19, 29.
- Sitte, P., 1958: Die Ultrastruktur von Wurzelmeristemzellen der Erbse (*Pisum sativum*). Eine elektronenmikroskopische Studie. *Protoplasma* 49, 447.
- Snatzke, G., 1956: Die neutralen Saponine und Herzgifte. In H. M. Rauen, *Biochemisches Taschenbuch*, S. 355.
- Thomas, J. B., O. H. Blaauw und L. N. M. Duysens, 1955: On the relation between size and photochemical activity of fragments of spinach grana. *Biochim. et Biophys. Acta* 10, 250.
- Wallach, O., 1887: Zur Kenntnis der Terpene und der ätherischen Öle. *Liebigs Ann. d. Chem.* 239, 1.

## Referate

**Handbuch der Pflanzenphysiologie.** Hrsg. von W. Ruhland, Band IX: Der Stoffwechsel der schwefel- und phosphorhaltigen Verbindungen. Redigiert von P. Schwarze. Mit 30 Abb., X, 506 S. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag 1958. Ganzl. DM 88.—. (Bei Verpflichtung zur Abnahme des gesamten Handbuches Subskr.-Preis DM 70.40.)

Der Herausgeber hat sich dazu entschlossen, die schwefel- und phosphorhaltigen Verbindungen in einem eigenen Band zu behandeln. Dies bringt ein gewisses Maß von Wiederholungen mit sich, da viele der besprochenen Verbindungen auch an anderen Stellen des Handbuches aufscheinen. Die zusammenfassende Darstellung ist aber trotzdem interessant und anregend.

Bei den Schwefelverbindungen wurden die schwefelhaltigen Aminosäuren ausgeklammert, da diese bereits im Zusammenhang mit dem Proteinstoffwechsel (Band VIII) besprochen worden waren. Die in den ersten Teil des Bandes aufgenommenen Kapitel betreffen: Die schwefelhaltigen Enzyme und Coenzyme, die Assimilation des Schwefels, die schwefelhaltigen sekundären Pflanzenstoffe, die Schwefelspezialisten unter den Mikroorganismen und den Schwefelkreislauf in der Natur.

Der zweite Teil des Bandes (Phosphorverbindungen) enthält Aufsätze über die Phosphorsäurespeicherung, die am Kohlehydratstoffwechsel beteiligten Phosphorsäureester, die P-haltigen Coenzyme, die an der Übertragung von Phosphatresten beteiligten Enzyme und die Rolle der Phosphate bei den Vorgängen der Energieübertragung.

Bei den Phosphorverbindungen mehr noch als bei den Schwefelverbindungen empfindet man Genuß darüber, daß diesem Thema ein eigener Band gewidmet worden ist. Es handelt sich ja doch um ein zentrales Gebiet des Stoffwechsels, das man sonst in der Literatur kaum in solch einem zusammenfassenden Überblick dargestellt findet.

H. Kinzel (Wien).

**Protoplasmatologia.** Handbuch der Protoplasmaforschung. Herausgegeben von L. V. Heilbrunn und F. Weber. Band VIII. Physiologie des Protoplasmas 9a: Polarität und inäquale Teilung des pflanzlichen Protoplasten. Von Erwin Bünnig, Tübingen. Mit 72 Textabb., IV, 86 S. Wien: Springer-Verlag, 1958. S 198.—, DM 33.—, sfr. 35.80, \$ 7.85, £ 2/16/-; Subskr.-Pr. S 162.—, DM 27.—, sfr. 27.60, \$ 6.45, £ 2/6/-.

Der Verfasser gibt in diesem Beitrag einen Überblick über die Forschungsergebnisse und die noch offenen Fragen, welche im Gebiet der Zellpolarität und inäqualen Teilung auftreten. Bünnig hat aus der sehr umfangreichen Literatur (er führt im Anhang etwa 300 Arbeiten an) eine sorgfältige Auslese getroffen und ist nur auf solche Dinge näher eingegangen, welche entweder dem Verständnis förderlich sind oder auf noch ungeklärte Verhältnisse hinweisen.

Einleitend befaßt sich der Autor mit den verschiedenen Arten und der Natur der Polarität. Wenn im Protoplasten stabile polare Verschiedenheiten

bestehen, so beruht das auf struktureller Asymmetrie desselben. Stoffliche Gradienten entstehen erst sekundär, sie sind durch die strukturelle Asymmetrie bedingt. Die Stabilität der plasmatischen Polarität verhält sich bei verschiedenen Objekten (*Taraxacum*-Wurzel, *Bryopsis*-Rhizoide, Zellen von *Acetabularia*, *Enteromorpha* usw.) recht unterschiedlich und die Interpretation fällt in manchen Fällen nicht leicht. Zu einer Induktion oder Änderung der Polarität kann es kommen durch Wechselwirkung mit anderen Zellen (Oosporen von *Vaucheria*, *Fucus*- und *Cystosira*-Eier, Embryonen), durch Licht (kurzwellige Strahlung ist besonders wirksam), durch Schwerkraft und Zentrifugierung, elektrische Potentiale u. a. Eine Aufhebung der Polarität und Verhinderung der Polarisierung ist z. B. möglich durch Überschwemmung mit Wuchsstoff, durch Einwirkung von Colchicin, Chloralhydrat, Äthylen oder durch Bestrahlung mit sichtbarem Licht oder mit Röntgenstrahlen. Anschließend wird noch auf die normalphysiologische Änderung der Polaritätsachse (bei Eizellen, Sporen usw.) eingegangen. Die physikalisch-chemische Natur und die mikroskopischen Äußerungen der protoplasmatischen Polarität versucht Bünning durch folgende Arbeitshypothese zu deuten: In den peripheren Plasmateilen werden Polypeptidketten zu Schraubenfiguren angeordnet, welche Anfang und Ende in je einem Pol der Zelle finden und polar gebaut sind. Die polaren Verteilungen innerhalb der Zelle sind Folge der polaren Plasmastruktur: Es gibt Gradienten der Plasmadichte und Plasmabeschaffenheit, Verschiedenheit der Zellkerne und Plastiden, polare Wuchs- und Wirkstoffgradienten, elektrische Gradienten sowie Gradienten in der Vakuole. Der letzte Abschnitt setzt sich mit der inäqualen Teilung als Folge der polaritätsbedingten Gradienten innerhalb der Zelle auseinander. Bei embryonalen Zellen sind möglicherweise ungleiche Mikrosomenverteilungen das Wesentliche für die inäqualen Teilungen.

Zusammenfassend entwirft Bünning ein hypothetisches Bild, in dem er zeigt, wie in fünf Phasen aus einer unpolaren Zelle, welche polar gebaute Moleküle enthält, durch äußere Faktoren stoffliche Gradienten entstehen können, welche die polaren Moleküle ausrichten. Dies bedingt weitere, polare, stoffliche Verschiedenheiten. Siegfried Pruzsinszky (Wien).

**Troschin, A. S.:** Das Problem der Zellpermeabilität. Mit 118 Abb. im Text u. 82 Tab. XII, 596 S. Jena: VEB Gustav Fischer. 1958. Geb. DM 40.20.

Obwohl nunmehr rund 80 Jahre seit der ersten Präzisierung der Frage nach der Permeabilität des Protoplasmas und seiner Häute durch Pfeffer verflossen sind, ist sie heute noch von genau gleicher Aktualität; alte Probleme sind noch keineswegs end- und allgemeingültig gelöst, durch neu herangetragene Gesichtspunkte (in neuerer Zeit z. B. durch die nichtosmotische Stoffaufnahme) ergeben sich immer neue Aspekte. Dabei wird in der Deutung der Permeabilität den Grenzschichten jeweils verschiedenes Gewicht zugewiesen, und es fehlt auch nicht an Stimmen, die ihre Bedeutung für die Regulierung des Stoffdurchtrittes durch das Plasma überhaupt in Abrede stellen. Troschin (Institut für Zytologie der Akademie der Wissenschaften der UdSSR in Leningrad) trägt mit großer Akribie die in der Permeabilitätsliteratur vorliegenden, gegen das Vorhandensein einer Plasmahaut sprechenden Argumente zusammen und stellt, vornehmlich auf die russische Literatur gestützt, der „Membrantheorie“ die von Nasonow ausgebaute (an Fischer, Lepeschkin, Bungenberg de Jong u. v. a. anknüpfende) „Sorptionstheorie des Protoplasmas“ entgegen. Ihr liegt der Gedanke zugrunde, daß das Plasma ein Komplexkoazervat ist und alles darin vorhandene Wasser kolloidchemisch gebunden sei und dieses daher durchweg andere Lösungseigenschaften aufweise als das freie Wasser der Umgebung. Das Plasma wird daher nicht als Phasensystem (Sol bzw. Gel mit intermizellarer wässriger Phase), sondern als eigene Phase auf-

gefaßt; die Permeabilitätseigenschaften des Plasmas werden in erster Linie durch die Gleichgewichtszustände zwischen der Phase Plasma und der umgebenden Lösung bestimmt.

Dieser Gedanke wird nun systematisch auf die Permeabilität von Nicht-elektrolyten, von organischen Säuren (Aminosäuren, Ascorbin- und andere Säuren) und von Vitalfarbstoffen, auf den Mineralstoffwechsel, die Salz-permeabilität von Tier- und Pflanzenzellen angewendet und unter Herausziehung der Literatur (vorwiegend russischer) zu untermauern gesucht. Auch das Wahl- und Speichervermögen gegen das Konzentrationsgefälle wird auf Gleichgewichtszustände, die durch die jeweilige (von der Außenkonzentration abhängige) Sorptionskraft des Plasmas bestimmt sind, zurückgeführt, ähnlich die bioelektrischen Potentiale und die Leitfähigkeit der Zellen, während nach Troschin die „Membrantheorie“ nicht imstande sei, diese Phänomene befriedigend zu erklären. Allerdings gibt Troschin das Vorhandensein des Tonoplasten und seine Sperrwirkung als osmotisch wirksame Membran zu, stellt aber eine äußere Hautschicht (ein Plasmalemma) als mit den Tatsachen in Widerspruch stehend entschieden in Abrede.

Es ist natürlich im Rahmen einer kurzen Besprechung unmöglich zu entscheiden, ob dieser Angriff auf die Membrantheorie gelungen und das mitgeteilte Tatsachenmaterial geeignet ist, die bisherigen Vorstellungen über die Permeabilität soweit umzustößeln, daß die Annahme einer äußeren Hautschicht völlig über Bord geworfen werden muß. Jedenfalls wird das Permeabilitätsproblem hier in seiner ganzen Breite aufgerollt, ein Umstand, der nur zu begrüßen ist und zweifellos außerordentlich fruchtbar werden kann.

Seinen besonderen Wert erhält das Buch durch die ausführliche Herausziehung der (wenn auch etwas einseitig ausgewerteten) Literatur, und die Permeabilitätsforscher werden es begrüßen, nunmehr auch eingehender mit der einschlägigen russischen Literatur bekannt gemacht zu werden. Das Literaturverzeichnis zählt neben rund 600 nichtrussischen Arbeiten über 400 Titel in russischer Sprache auf. Damit haben wir ein modernes Nachschlagewerk der Permeabilitätsliteratur in Händen, wie es die älteren Monographien von Gellhorn und von Brooks sind. Angesichts dieser Beherrschung der Literatur überrascht es allerdings, daß z. B. die Arbeiten der Ariszschen Schule übersehen worden sein sollten; auch auf die Vorstellungen vom „apparent free space“, die heute in den Diskussionen um die Stoffaufnahme eine Rolle spielt, oder die nichtosmotische Stoffaufnahme wird nicht eingegangen, obwohl gerade die Wasser- und Stoffaufnahme der vakuolenfreien Zelle nach Troschin nicht den osmotischen Gesetzen unterliegt und überhaupt die „Sorptions-theorie“ offenbar darauf angelegt ist, in eine allgemeine Theorie der Stoffaufnahme zu münden.

Abschließend sei auch dem Übersetzer (W. Höppner) und dem Verlag der Dank ausgesprochen, daß dieses interessante Buch den deutschen Forschern zugänglich gemacht worden ist. O. Härtel (Graz).

### Berichtigung

zu der Arbeit: G. Bopp-Hassenkamp. „Lichtmikroskopische und elektronenoptische Untersuchungen über den Aufbau pflanzlicher Chromosomen im Pachytän der Meiosis“, *Protoplasma* 50, 245–268. In der Abb. 5 auf Seite 250 ist die Strichzeichnung zu Ausschnitt c um 180° zu drehen. In Abb. 6 auf Seite 251 sind die Zeichnungen vertauscht; die rechte Zeichnung gehört zur linken Aufnahme, die linke Zeichnung zur rechten Aufnahme.



# PROTOPLASMA

UNTER BESONDERER MITWIRKUNG VON

**NOBURÔ KAMIYA**  
OSAKA

**SIEGFRIED STRUGGER**  
MÜNSTER

HERAUSGEGEBEN VON

**JOSEF SPEK**  
ROSTOCK

**FRIEDL WEBER**  
GRAZ

**KARL HÖFLER**  
WIEN

## L. BAND

MIT 288 TEXTABBILDUNGEN UND 4 TAFELN



**WIEN**  
**SPRINGER-VERLAG**  
1959

L

D

S

9

I

# Inhalt

## Abhandlungen

<b>Bancher, E. und J. Hölzl:</b> Über die Drüsenhaare von <i>Solanum tuberosum</i> , Sorte „Sieglinde“ . . . . .	356
<b>Benda, G. T. A.:</b> Nuclear Movement in an Injured Cell . . . . .	410
<b>Blehl, R.:</b> Temperatur- und osmotische Resistenz von Meeresalgen der bretonischen Küste . . . . .	217
— Das Bild des Zelltodes bei verschiedenen Meeresalgen . . . . .	321
<b>Bopp-Hassenkamp, Gisela:</b> Lichtmikroskopische und elektronenmikroskopische Untersuchungen über den Aufbau pflanzlicher Chromosomen im Pachytän der Meiosis . . . . .	243
<b>Diannelidis, Th. und K. Höfler:</b> Über die Elaioplasten der Rotalge <i>Laurencia obtusa</i> . . . . .	590
<b>Freytag, K.:</b> Quellende Schleimzellen der Samenepidermis von <i>Sinapis alba</i> im polarisierten Licht . . . . .	166
<b>Girbardt, M.:</b> Experimentelle Zellkern-Verlagerung in Pilzhyphen . . . . .	483
<b>Haber, W.:</b> Lichtmikroskopische Untersuchungen über die Entwicklung der Chloroplasten von <i>Cabomba furcata</i> Schult. f. . . . .	269
<b>Höfler, K.:</b> W. S. Iljin, 1888—1957 . . . . .	189
<b>Hölzl, J. und E. Bancher:</b> Fluoreszenzmikroskopische Studien an der Kartoffelknolle I. Die Primärfluoreszenz der Eiweißkristalle . . . . .	297
— — Fluoreszenzmikroskopische Studien an der Kartoffelknolle II. Färbungen und Fluorochromierungen der Eiweißkristalle . . . . .	303
<b>Iljin, W. S.:</b> Determination of Nitrogen in Plants Using Hypobromate and Avoiding Distillation . . . . .	198
<b>Jarosch, R.:</b> Die Protoplasmafibrillen der Characeen . . . . .	93
— Zur Gleitbewegung der niederen Organismen . . . . .	277
<b>Kaho, H.:</b> Über die Beeinflussung der Hitzekoagulation des Pflanzenplasmas durch Rhodamine von Neutralsalzen in Verbindung mit organischen Stoffen I . . . . .	149
<b>Kamiya, N. and K. Kuroda:</b> Measurement of the Motive Force of the Protoplasmic Rotation in <i>Nitella</i> . . . . .	144
<b>Keller, R.:</b> Electropolar Dyes in Kidney . . . . .	173
<b>Kern, H.:</b> Über das Vorkommen von Nucleinsäuren in isolierten Chloroplasten . . . . .	505
<b>Kinzel, H.:</b> Metachromatische Eigenschaften basischer Vitalfarbstoffe . . . . .	1
<b>Merwe, W. J. van der:</b> Die Ausdifferenzierung des Vakuolensystems in Blüten- und Laubblattepidermen von <i>Primula kewensis</i> . . . . .	370
<b>Milovidov, P.:</b> Bohumil Němec . . . . .	181
<b>Mix, Marianne:</b> Zum Mechanismus der Sphärosomenfluoreszenz mit Oxazinen und anderen basischen Farbstoffen . . . . .	434
<b>Nakazawa, S.:</b> Protoplasmic Polarity as a Groundwork for Genic Actions . . . . .	208
— TTC Reduction and Neutralred Demixing in <i>Polysiphonia</i> Cells . . . . .	212
<b>Neubauer, H. F. und A. Apandi:</b> Über die Unregelmäßigkeiten in der Entwicklung und Mißbildungen des Spaltöffnungsapparates . . . . .	290
<b>Reisinger, E.:</b> Anormogenetische und parasitogene Syneytienbildung bei Turbellarien . . . . .	627
<b>Röder, Ingeborg:</b> Die Eigenfluoreszenz der Papaveraceen im Laufe der Entwicklung . . . . .	413

<b>Stadelmann, E.:</b> Zur Permeabilität der Epidermiszellen von <i>Carduncellus eriocephalus</i> . . . . .	51
<b>Steinhauf, D.:</b> Untersuchungen über die Cytodynamik der Spermatogenese von <i>Oedipoda coerulescens</i> L. . . . .	109
<b>Steinlesberger, Erna:</b> Plasmolysestudien an Laubmoosen I. Erscheinungen des Plasmolyseverzuges . . . . .	544
<b>Strugger, S. und Hildegard Lindner:</b> Untersuchungen zum Problem der Feinstruktur des Cytoplasmas der Wurzelmeristemzellen von <i>Allium cepa</i> . . . . .	607
<b>Url, W. und Elsalore Fetzmann:</b> Wärmeresistenz und chemische Resistenz der Grünalge <i>Gloeococcus bavaricus</i> Skuja . . . . .	471
<b>Weixl-Hofmann, Hertha:</b> Über die Auslösung von Sporenbildung bei bisher als asporogen geltenden Hefearten . . . . .	340
<b>Wohlfarth-Bottermann, K. E.:</b> Cytologische Studien V. Feinstrukturveränderungen des Cytoplasmas und der Mitochondrien von <i>Paramecium</i> nach Einwirkung letaler Temperaturen und Röntgendosen . . . . .	82

### Kurze Mitteilungen

<b>Kinzel, H.:</b> Über Plasmaeinschlüsse bei den Zygnemataceen . . . . .	498
<b>Skuja H.:</b> <i>Gloeococcus bavaricus</i> n. sp. und <i>Coelastrella compacta</i> n. sp. . . . .	493

### Sammelreferate

<b>Iljin, W. S.:</b> Summary of the Scientific Works Published by Prof. Dr. W. S. Iljin . . . . .	316
<b>Kinzel, H.:</b> Biochemische Ergebnisse von pflanzenphysiologischer Bedeutung . . . . .	644

<b>Referate</b> . . . . .	185, 320, 501, 666
---------------------------	--------------------

# PROTOPLASMA

UNTER BESONDERER MITWIRKUNG VON

**NOBURÔ KAMIYA**  
OSAKA

**SIEGFRIED STRUGGER**  
MÜNSTER

HERAUSGEGEBEN VON

**JOSEF SPEK**  
ROSTOCK

**FRIEDL WEBER**  
GRAZ

**KARL HÖFLER**  
WIEN

L. BAND

**Autorenverzeichnis von Band XLI—L**



**WIEN**  
**SPRINGER-VERLAG**  
1959

Protoplasma

L

D

S

9

I



## Autorenverzeichnis

Titel der Arbeit	Band	Seite
<b>I. Abhandlungen</b>		
Alcer, G.: Die Aufnahme von Harnstoffen und Glycerin durch die Pflanzenzelle in Abhängigkeit von der Acidität der Auflösung und des Zellsaftes . . . . .	XLVII	77
Amelunxen, F.: Beobachtungen über die Entwicklung der Eiweißspindeln bei Cactaceen (Vorl. Mitt.) . . . . .	XLV	164
— Über die Strukturanalyse der Eiweißspindeln der Cactaceae (Vorl. Mitt.) . . . . .	XLV	228
— Die Virus-Eiweißspindeln der Kakteen. Darstellung, elektronenmikroskopische und biochemische Analyse des Virus . . . . .	XLIX	140
Arisz, W. H.: Significance of the Symplasm Theory for Transport across the Root . . . . .	XLVI	5
Arndt, E. A.: Histologische und histochemische Untersuchungen über die Oogenese und bipolare Differenzierung von Süßwasser-Teleosteen . . . . .	XLVII	1
Arnold, A.: Über den Funktionsmechanismus der Endodermiszellen der Wurzeln . . . . .	XLI	189
Badenhuizen, N. P.: Some Observations on Removable Spirals in <i>Scilla ovatifolia</i> Bak. . . . .	XLIII	429
— The Structure of the Starch Granule . . . . .	XLV	315
— and R. W. Dutton: Growth of <sup>14</sup> C-labelled Starch Granules in Potato Tubers as Revealed by Autoradiographs . . . . .	XLVII	156
Bairati, A., and F. E. Lehmann: Structural and Chemical Properties of the Contractile Vacuole of <i>Amoeba proteus</i> . . . . .	XLV	525
Bancher, E., und J. Hölzl: Über die Drüsenhaare von <i>Solanum tuberosum</i> Sorte „Sieglinde“ . . . . .	L	356
Bartels, F.: Ungewöhnlich große Chloroplasten bei <i>Epi-lobium</i> -Bastarden . . . . .	XLVIII	398
Barthelmess, A.: Chemisch induzierte multipolare Mitosen . . . . .	XLVIII	546
Bauer, L.: Über den Wasserhaushalt der Submersen. 1. Zur Frage der Saugkräfte der Submersen . . . . .	XLI	178
Bělehrádek, J.: A Unified Theory of Cellular Rate Processes Based upon an Analysis of Temperature Action	XLVIII	53

Titel der Arbeit	Band	Seite
Benda, G. T. A.: Nuclear Movement in an Injured Cell . .	L	410
Biebl, R.: Resistenz der Meeresalgen gegen sichtbares Licht und gegen kurzwellige UV-Strahlen . . . . .	XLI	353
— Resistenz pflanzlicher Plasmen gegen 2,4-D . . . . .	XLII	193
— Zellwandpermeabilität einiger Moose . . . . .	XLIV	73
— und W. Rossi-Pillhofer: Die Änderung der chemi- schen Resistenz pflanzlicher Plasmen mit dem Entwick- lungszustand . . . . .	XLIV	113
— Lichtresistenz von Meeresalgen . . . . .	XLVI	63
— und W. Url: UV-Strahlenwirkungen auf Zellen von <i>Allium cepa</i> , besonders deren Chondriosomen und Pla- stiden . . . . .	XLIX	329
— Temperatur und osmotische Resistenz von Meeresalgen der bretonischen Küste . . . . .	L	217
— Das Bild des Zelltodes bei verschiedenen Meeresalgen . .	L	321
Bierling, R.: Zur Bedeutung der lokalen Mitochondrien- dichte für die Formkonstanz von Zellen . . . . .	XLIV	299
Blum, G.: Beiträge zur Kenntnis der Saugkraft des Kam- biums von Laubböhlern . . . . .	XLVI	90
Boerner, D.: Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen an Lipoiden . . . . .	XLI	168
Böing, J.: Vitaluntersuchungen über die Kontinuität der Granastruktur in den Chloroplasten von <i>Helodea densa</i> . .	XLV	55
Bopp-Hassenkamp, G.: Lichtmikroskopische und elek- tronenoptische Untersuchungen über den Aufbau pflanz- licher Chromosomen im Pachytän der Meiosis . . . . .	L	243
Brauner, L., und M. Hasman: Weitere Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus des Heteroauxins bei der Wasseraufnahme von Pflanzenparenchymen . . . . .	XLI	302
Brooks, M. M.: Changes in the Growth of Marine Eggs as Affected by Changes in Redox Potentials . . . . .	XLVI	104
Brooks, S. C.: The Penetration of Radioactive Sodium into <i>Valonia</i> and <i>Halicystis</i> . . . . .	XLII	63
Bünning, E., G. Hunck und H. Lutz: Über die Rolle longitudinaler und radialer Polaritätsgradienten bei der Gewebedifferenzierung von Pflanzen . . . . .	XLVI	108
Butterfass, Th.: Modellversuche zur Beeinflussung der Diffusion eines Fluorochroms als Anzeiger des Wasser- wegs in pflanzlichen Kapillaren . . . . .	XLVII	398
— Fluoroskopische Untersuchungen an Keulenhaaren von <i>Vicia faba</i> L. und <i>Phaseolus coccineus</i> L. . . . .	XLVII	415
— Über Grana, Karyoide von <i>Spirogyra</i> . . . . .	XLVIII	368
— Über das Vorkommen umgekehrt gewundener Chromato- phoren bei <i>Spirogyra</i> . . . . .	XLVIII	419
Casari, K.: Über den Plasmolytikumwechsel-Effekt . . . .	XLII	427
Ceruti, A.: Alcuni aspetti dei microsomi e dei mitocondri al microscopio elettronico . . . . .	XLVI	116

Titel der Arbeit	Band	Seite
Cholnoky, B. J.: Beobachtungen über die Wirkung der Kalilauge auf das Protoplasma . . . . .	XLI	57
Cohen, M., and E. Bowler: Lamellar Structure of the Tobacco Chloroplast . . . . .	XLII	414
Collander, R.: Permeability Studies on Luminous Bacteria . . . . .	XLVI	123
Currier, H. B., and W. van der Zweep: Plasmolysis and the Tetrazolium Reaction in <i>Anacharis canadensis</i> . . . . .	XLV	125
— and S. Strugger: Aniline Blue and Fluorescence Microscopy of Callose in Bulb Scales of <i>Allium Cepa</i> L. . . . .	XLV	352
Czaja, A. Th.: Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über das Haftprotein bei Stärkekörnern . . . . .	XLVI	143
Dangeard, P.: Le vacuome des grains de pollen et sa coloration vitale . . . . .	XLVI	152
Diannelidis, Th., und K. Umrath: Über das elektrische Potential und über den Erregungsvorgang bei dem Myxomyceten <i>Physarum polycephalum</i> . . . . .	XLII	312
— — Aktionsströme der Blasen von <i>Utricularia vulgaris</i> . . . . .	XLII	58
— und K. Höfler: Über die Elaioplasten der Rotalge <i>Laurencia obtusa</i> . . . . .	L	590
Diskus, A.: Vitalfärbestudien an Euglenaceen . . . . .	XLIV	194
— Färbestudien an den Schleimkörperchen und Schleimausscheidungen einiger Euglenen . . . . .	XLV	460
— Osmoseverhalten und Permeabilität der Gymnodiniale <i>Oxyrrhis marina</i> . . . . .	XLVI	160
— Das Osmoseverhalten einiger Peridineen des Süßwassers . . . . .	XLIX	187
Drawert, H., und B. Endlich: Der Einfluß von Sauerstoff und Atmungsgiften auf die Aufnahme und Speicherung saurer und basischer Farbstoffe durch die lebende Pflanzenzelle . . . . .	XLVI	170
— Über hundert Jahre Vitalfärbung pflanzlicher Zellen . . . . .	XLVII	531
— und I. Metzner: Untersuchungen zur vitalen Fluorochromierung pflanzlicher Zellen mit Neutralrot . . . . .	XLVII	359
Düvel, D.: Polarisationsoptische Chloroplastenuntersuchungen an <i>Impatiens parviflora</i> . . . . .	XLI	446
— Beiträge zur Kenntnis der Struktur und Entwicklung der Chloroplasten . . . . .	XLIV	239
Erdmann, K.: Versuche zur Aufhebung der koagulierenden Wirkungen von ultraviolettem Licht und von Röntgenstrahlen auf Euglobulin mit Strahlen-Schutzstoffen . . . . .	XLV	293
— Zusammenhänge zwischen reduzierenden Eigenschaften und Schutzwirkung von SH-Verbindungen gegen Strahlen. (Versuche an Euglobulinlösungen) . . . . .	XLVII	384
— I. Meyer und S. Junghans: Versuche zur Verhinderung von Ultraviolett-Wirkungen auf den Inhalt überlebender tierischer Zellkerne mit Strahlenschutzstoffen . . . . .	XLVIII	198
Essner, E. S.: The Breakdown of Isolated Yolk Granules by Cations . . . . .	XLIII	79

Titel der Arbeit	Band	Seite
Fasse-Franzisket, U.: Die Teilung der Proplastiden und Chloroplasten bei <i>Agapanthus umbellatus</i> L'Hérit. . .	XLV	194
Fetzmann, E. L.: Über die rotierende Eigenbewegung der Zellkerne und Plastiden bei <i>Chara foetida</i> . . . . .	XLIX	549
Flasch, A.: Die Wirkung von Coffein auf vitalgefärbte Pflanzenzellen . . . . .	XLIV	412
— Die Festigkeit der Bindung einiger basischer Farbstoffe in vitalgefärbten Pflanzenzellen . . . . .	XLV	595
Foster, A. S.: Plant Idioplasts: Remarkable Examples of Cell Specialization . . . . .	XLVI	184
Franz, R.: Lipidentmischung von Algenplastiden . . . . .	XLIX	197
Frey-Wyssling, A., F. Ruch und X. Berger: Monotrope Plastiden-Metamorphose . . . . .	XLV	97
— Myelinartige Verquellung der Chloroplasten in Rohrzuckerlösung . . . . .	XLVI	194
Freytag, K.: Der submikroskopische Bau der Deckhaare von <i>Lamium galeobdolon</i> Crantz . . . . .	XLIII	255
— Optik und Feinbau der Schleimzellen in den Knollen verschiedener <i>Orchis</i> -Arten . . . . .	XLVII	257
— Quellende Schleimzellen der Samenepidermis von <i>Sinapis alba</i> im polarisierten Licht . . . . .	L	166
Fritz, M.: Über die Aufsättigung abgeschnittener Blätter bei Einstellen in Lösungen von Elektrolyten und Anelektrolyten . . . . .	XLVI	198
Fuhs, G. W.: Untersuchungen an Ultradünnschnitten von <i>Oscillatoria amoena</i> (Kütz.) Gomont . . . . .	XLIX	525
Galperin, H., et M. Errera: Le contact entre cellules irradiées favorise-t-il leur restauration? . . . . .	XLVI	210
Geitler, L.: Über lokalisierte Karotinoidbildung und über Baueigentümlichkeiten des Cyanophyceenprotoplasten . .	XLVI	215
Germ, H.: Plastidenzerfall in den Epidermiszellen von <i>Cephalanthera</i> -Arten . . . . .	XLIII	402
— und M. Kietreiber: Vitale Entmischung des Cytoplasmas von Cyclamen . . . . .	XLVI	225
Gersch, M., H. Franke und R. Deuse: Lichtoptische und elektronenmikroskopische Untersuchungen über den Einfluß verschiedener extrazellulärer Faktoren (anorganische Salze, Germanin [Bayer 205], Vitamin K) auf den Zustand des Protoplasmas von <i>Amoeba proteus</i> . . . . .	XLIX	18
Gicklhorn, J.: Notizen zu Beobachtungen über Vertrocknungsgradienten und einige Anregungen zu Fragen der Protoplasmatik . . . . .	XLVI	270
Girbardt, M.: Experimentelle Zellkern-Verlagerungen in Pilzhypen . . . . .	L	485
Grave, G.: Studien über die Entwicklung der Chloroplasten bei <i>Agapanthus umbellatus</i> . . . . .	XLIV	275
Gross, P. R.: On the Mechanism of the Yolk-Lysis Reaction	XLIII	416

Titel der Arbeit	Band	Seite
Günther, E.: Der Einfluß chemischer und physikalischer Faktoren auf die protoplasmatischen Eigenschaften isolierter <i>Elodea</i> -Blätter unter besonderer Berücksichtigung der Zusammenhänge zwischen Wachstumsphase und Plasmaviskosität . . . . .	XLVIII	1
Guttenberg, H. v., und K. Steinweg: Die Anisophyllie in Abhängigkeit vom Wirkstoffgehalt der Pflanze, untersucht an <i>Centradenia floribunda</i> und <i>Centradenia grandiflora</i> . . . . .	XLVI	284
— und B. Reiff: Über den Einfluß von Atmungsgiften auf Wasserpermeabilität und Wuchsstoffwirkung an den Epidermiszellen von <i>Rhoeo discolor</i> . . . . .	XLVIII	499
Haber, W.: Lichtmikroskopische Untersuchungen über die Entwicklung der Chloroplasten von <i>Cabomba furcata</i> Schult. . . . .	L	269
Härtel, O.: Färbungsstudien an der pflanzlichen Kutikula . . . . .	XLI	1
— Das Verhalten des „festen Zellsaftes“ von <i>Cerinth</i> bei Fluorochromierung mit Acridinorange . . . . .	XLII	85
— und I. Thaler: Die Proteinoplasten von <i>Helleborus corsicus</i> Willd. . . . .	XLII	417
— Über Permeabilitätseigenschaften der pflanzlichen Kutikula . . . . .	XLVI	301
Hagedorn, H.: Untersuchungen über den isoelektrischen Punkt bei Actinomyceten . . . . .	XLV	115
Hagström, B., and J. Runnström: The Effect of N-Ethylmaleimide on the Fertilization of the Sea Urchin Egg . . . . .	XLIV	154
Heilbrunn, L. V., and W. L. Wilson: The Initiation of Cell Division in the <i>Chaetopterus</i> Egg . . . . .	XLIV	377
— The Aging of <i>Chaetopterus</i> Eggs . . . . .	XLVI	317
Hilmbauer, K.: Zellphysiologische Studien an Euglenaceen, besonders an <i>Trachelomonas</i> . . . . .	XLIII	192
Höfler, K., und L. Höfler: Osmoseverhalten und Nekroseformen von <i>Euglena</i> . . . . .	XLI	76
— und H. Schindler: Vitalfärbbarkeit verschiedener Closterien . . . . .	XLII	296
— — Volle und leere Zellsäfte bei Algen . . . . .	XLV	175
— A. Ziegler und M. Luhan: Fluorochromierungsstudien mit Uranin . . . . .	XLVI	322
— Thioninfärbbarkeit der Zellmembranen von Süßwasser-algen . . . . .	XLVIII	522
— und A. Diskus: Vitalfärbungen mit Nilblau und Brillantcresylblau . . . . .	XLVIII	429
— Aluminiumsalz-Wirkung auf Spirogyren und Zygnemen . . . . .	XLIX	248
— und W. Url: Das Verhalten der Chondriosomen bei Kappenplasmolyse . . . . .	XLIX	307
— W. S. Iljin, 1888—1957 . . . . .	L	189

Titel der Arbeit	Band	Seite
Hölzl, J., und E. Bancher: Fluoreszenzmikroskopische Studien an der Kartoffelknolle. I. Die Primärfluoreszenz der Eiweißkristalle . . . . .	L	297
— — — Fluoreszenzmikroskopische Studien an der Kartoffelknolle. II. Färbungen und Fluorochromierungen der Eiweißkristalle . . . . .	L	303
Hofmeister, L.: Mikrurgische Untersuchungen über die geringe Fusionsneigung plasmolysierter, nackter Pflanzenprotoplasten . . . . .	XLIII	278
— Über die Plasmagrenzschichten im Pollenkorn . . . . .	XLVI	367
Honsell, E.: Sulla presenza di succhi cellulari „vuoti“ in <i>Nitella mucronata</i> e <i>Chara crinita</i> . . . . .	XLVIII	325
Huber, B., E. Kinder, E. Obermüller und H. Ziegenspeck: Spaltöffnungs-Dünnschnitte im Elektronenmikroskop . . . . .	XLVI	380
Huber, E.: Über den schädigenden Einfluß von Neutralrot auf <i>Spirogyra</i> -Zellen . . . . .	XLV	491
Hug, O., W. Lippert und H. Fischer: Das elektronenoptische Bild der Salmonidenspermatozoen . . . . .	XLII	94
Iljin, W. S.: Determination of Nitrogen in Plants Using Hypochromate and Avoiding Distillation . . . . .	L	198
Imaizumi, T.: Recherches sur l'expression des facteurs létaux héréditaires chez l'embryon de la drosophile. I . . .	XLIV	1
— Recherches sur l'expression des facteurs létaux héréditaires chez l'embryon de la drosophile. III . . . . .	XLIV	22
— et Y. Kimoto: Recherches sur l'expression des facteurs létaux héréditaires chez l'embryon de la drosophile. II . .	XLIV	11
Jarosch, R.: Die Impulsrichtungsänderungen bei der Induktion der Protoplasmaströmung . . . . .	XLVII	478
— Die Protoplasmafibrillen der Characeen . . . . .	L	93
— Zur Gleitbewegung der niederen Organismen . . . . .	L	277
Johannes, H.: Beiträge zur Vitalfärbung von Pilzmyzelien . . . . .	XLIV	165
Jonas, H.: A Study of the Dynamics of K <sup>42</sup> uptake by Sunflower Plants with the Aid of a Scintillation Count-Rate Meter . . . . .	XLVII	67
Joyet-Lavergne, Ph.: L'aspect cytophysiologique du problème du Cancer . . . . .	XLI	235
Kaho, H.: Untersuchungen über die antagonistische Wirkung von Mono- und Disacchariden und chemisch nahestehenden Stoffen bei der Wirkung einiger Elektrolyte auf das Pflanzenplasma. I. Mitt. . . . .	XLV	560
— Untersuchungen über die antagonistische Wirkung der Mono- und Disaccharide sowie der mehrwertigen Alkohole bei der Wirkung von Säuren auf das Pflanzenplasma. II. Mitt. . . . .	XLVII	164
— Untersuchungen über die antagonistische Wirkung der Zucker und mehrwertigen Alkohole bei der Wirkung von Alkalien auf das Pflanzenplasma. III. Mitt. . . . .	XLVII	242



Titel der Arbeit	Band	Seite
K a h o, H.: Über die Beeinflussung der Hitzeagulation des Pflanzenplasmas durch Rhodanide von Neutralsalzen in Verbindung mit organischen Stoffen. I . . . . .	L	149
K a j a, H.: Untersuchungen über die Chromatophoren und Pyrenoide der Anthocerotales . . . . .	XLIV	136
— Untersuchungen über Struktur und Entwicklung der Leukoplasten in der Epidermis von <i>Chlorophytum comosum</i> (Thunb.) Bak. . . . .	XLVII	280
K a m i y a, N.: In memoriam William Seifriz . . . . .	XLV	513
— and M. T a z a w a: Studies on Water Permeability of a Single Plant Cell by Means of Transcellular Osmosis . .	XLVI	394
— and K. K u r o d a: Artificial Modification of the Osmotic Pressure of the Plant Cell . . . . .	XLVI	423
— H. N a k a j i m a and Sh. A b e: Physiology of the Motive Force of Protoplasmic Streaming . . . . .	XLVIII	94
— and K. K u r o d a: Studies on the Velocity Distribution of the Protoplasmic Streaming in the Myxomycete Plasmodium . . . . .	XLIX	1
— and K. K u r o d a: Measurement of the Motive Force of the Protoplasmic Rotation in <i>Nitella</i> . . . . .	L	144
K a u n a t, H.: Die Wirkung von Antibiotika auf <i>Paramecium caudatum</i> . . . . .	XLV	1
K e l l e r, R.: Elektropolare Farbstoffe im elektrischen Organ — Electropolar Dyes in Kidney . . . . .	XLVII L	139 173
K e l l y, J. W.: Metachromasy in the Eggs of Fifteen Lower Animals . . . . .	XLIII	329
K e n d a, G., I. T h a l e r und F. W e b e r: Sphärit-Bildung aus <i>Cirsium</i> -Zellsaft . . . . .	XLI	69
— — — Schließzellen-Chloroplasten vergilben nicht . . .	XLII	246
— Eiweißspindeln in <i>Opuntia monacantha</i> f. <i>variegata</i> . .	XLIV	192
K e r n, H.: Über das Vorkommen von Nucleinsäuren in isolierten Chloroplasten . . . . .	L	505
K i e r m a y e r, O.: Fluorochromierung pflanzlicher Zellen mit Fluoreszent X (reduziertem Neutralrot) . . . . .	XLVI	437
— und E. Y o u s s e f: Über die toxische Wirkung synthetischer Wuchs- und Hemmstoffe auf das Protoplasma einiger Pflanzen . . . . .	XLIX	541
K i n z e l, H.: Die Bedeutung der Pektin- und Zellulosekomponente für die Lage des Entladungspunktes pflanzlicher Zellwände . . . . .	XLII	209
— pH-Werte alkalischer Phosphatpufferlösungen . . . .	XLIII	441
— Theoretische Betrachtungen zur Ionenspeicherung basischer Vitalfarbstoffe in leeren Zellsäften . . . . .	XLIV	52
— Zur Kausalfrage der Zellwand-Fluorochromierung mit Akridinorange . . . . .	XLV	73
— Untersuchungen über Bau und Chemismus der Zellwände von <i>Antithamnion cruciatum</i> (Ag.) Näg. . . . .	XLVI	445

Titel der Arbeit	Band	Seite
Kinzel, H.: Metachromatische Eigenschaften basischer Vitalfarbstoffe . . . . .	L	1
Kitching, J. A.: Effects of High Hydrostatic Pressure on a Feeding Suctorian . . . . .	XLVI	475
Kling, H.: Versuche zur cytologischen Darstellung der Stoffeintrittsstellen und Stofftransportbahnen in Wurzelrindenzellen . . . . .	XLIX	364
Kopetzky-Rechtberg, O.: Beobachtungen an Protoplasma und Chloroplasten der Alge <i>Netrium digitus</i> (Ehrenberg) bei Kultur unter Lichtabschluß . . . . .	XLIV	322
Koshimizu, Y., and N. Iizuka: Origins and Formation of Intracellular Inclusions Associated with two Leguminous Virus Diseases . . . . .	XLVIII	115
Kral, F.: Deplasmolyseverlauf in hydrolisierten Salzlösungen und Permeabilität des Plasmas für Essigsäure, Ammoniak und einige Amine . . . . .	XLVI	481
Kriszat, G.: Über periodische Änderungen im Zustand der Plasmamembran und des Zytoplasmas während des Einzell-Stadiums des befruchteten Seeigelleies . . . . .	XLIV	89
Küster, E.: Zytomorphologische Beobachtungen an <i>Chaetomorpha</i> . . . . .	XLI	467
Kuhl, W.: Untersuchungen über die Cytodynamik der Plasmagie und temporären „Plasmabrücken“ bei <i>Actinosphaerium eichhorni</i> Ehrbg. unter Änderung des Zeitfaktors mittels des Zeitrafferfilms . . . . .	XLII	135
— Zeitrafferfilm-Untersuchungen über die Wirkung von Zentrifugierung und Pressung auf die Cytoplasmastrukturen, den Plasmogamieablauf und die Zellrestitution bei <i>Actinosphaerium eichhorni</i> Ehrbg. . . . .	XLIII	3
Kurosumi, K.: Electron Microscope Studies on Mitosis in Sea-Urchin Blastomeres . . . . .	XLIX	116
Küttig, W.: Weitere Beiträge zur Fluorochromierung der Sphärosomen pflanzlicher Zellen mit basischen Farbstoffen . . . . .	XLVIII	562
Laber, L.: Entwicklung und Nekrose einiger kurzlebiger Pflanzenhaare . . . . .	XLIII	90
Lesser, P.: Elektrochemische Bestimmungen der Sauerstoffaufnahme pflanzlicher Zellen unter dem Einfluß einiger Anilinfarbstoffe . . . . .	XLIX	41
Lettré, H., und A. Schleich: Zur Bedeutung der Adenosintriphosphorsäure für Formkonstanz und Formänderungen von Zellen . . . . .	XLIV	314
— und W. Siebs: Zur Entstehung chromatinfreier Cytoplasmen durch Teilung . . . . .	XLVI	525
Levitt, J.: The Moment of Frost Injury . . . . .	XLVIII	289
Linser, H.: Die Wuchsstoffwirksamkeit von $\beta$ -Naphthoxyessigsäure und Indol-3-Essigsäure in gepufferten Lanolinpasten verschiedener Wasserstoffionenkonzentrationen . . . . .	XLIV	307

Titel der Arbeit	Band	Seite
Luger, H.: Der Einfluß der Ascorbinsäure auf die Assimilation und Atmung höherer Pflanzen . . . . .	XLIV	212
Markert, S.: Untersuchungen über den Einfluß von Elektrolyten auf die Viskosität von pflanzlichen Solen . . . . .	XLV	37
Mayersbach, H.: Über die Färbbarkeit des Schilddrüsenkolloids . . . . .	XLI	432
Mayr, H. H.: Zur Kenntnis des osmotischen Verhaltens von Getreidewurzeln . . . . .	XLIV	389
Mazia, D., and J. D. Roslansky: The Quantitative Relations between Total Cell Proteins and the Proteins of the Mitotic Apparatus . . . . .	XLVI	328
Menke, W., und G. Menke: Wasser und Lipide in Chloroplasten . . . . .	XLVI	333
Merwe, W. J. van der: Die Ausdifferenzierung des Vakuolensystems in Blüten- und Laubblattepidermen von <i>Primula kemensis</i> . . . . .	L	370
Mess, E.: Kritische Untersuchungen zur kolorimetrischen Bestimmung der isoelektrischen Punkte einzelner Zellbestandteile fixierter pflanzlicher Gewebe . . . . .	XLVII	189
Metzner, H.: Die Reduktion wäßriger Silbernitratlösungen durch Chloroplasten und andere Zellbestandteile . . . . .	XLI	129
Mevius, W. sen., und D. Düvel: Die Grana-Anordnung in Chloroplasten . . . . .	XLII	287
Michaelis, P.: Über die Vererbung von Plastidenmerkmalen . . . . .	XLVIII	403
Miličić, D.: Zur Kenntnis der Phlobaphenkörper in Früchten einiger <i>Malus</i> -Arten . . . . .	XLI	327
— Viruskörper und Zellteilungsanomalien in <i>Opuntia brasiliensis</i> . . . . .	XLIII	228
— und B. Plavšić: Eiweißkristalloide in Kakteen-Virus-trägern . . . . .	XLVI	347
— Virus-Zelleinschlüsse in <i>Alliaria officinalis</i> . . . . .	XLVII	341
— und V. Bralić: Viruskörper von <i>Rumex obtusifolius</i> . . . . .	XLIX	226
Milovidov, P.: Robert Feulgen . . . . .	XLVIII	164
— Bohumil Němec . . . . .	L	181
Mix, M.: Zum Mechanismus der Sphärosomenfluoreszenz mit Oxazinen und anderen basischen Farbstoffen . . . . .	L	434
Mudrack, K.: Experimentelle Untersuchungen an isolierten Chloroplasten . . . . .	XLVI	356
— Über Größen und Strukturänderungen der Chloroplasten in Rohrzucker- und Elektrolytlösungen . . . . .	XLVII	461
Mühlethaler, K.: Untersuchungen über die Struktur und Entwicklung der Proplastiden . . . . .	XLV	264
Munding, H.: Untersuchungen zur Frage der Strahlenresistenz des Chlorophylls in den Chloroplasten . . . . .	XLI	212
Muschik, M.: Untersuchungen zum Problem der Aleuronkornbildung . . . . .	XLII	43

Titel der Arbeit	Band	Seite
Nakazawa, S.: Vital Staining and Mechanical Inversion of <i>Volvox</i> . . . . .	XLVIII	425
— Protoplasmic Polarity as a Groundwork for Genic Actions . . . . .	L	208
— TTC Reduction and Neutral Red Demixing in <i>Polysiphonia</i> Cells . . . . .	L	212
Neubauer, H. F., und A. Apandi: Über Unregelmäßigkeiten in der Entwicklung und über Mißbildungen des Spaltöffnungsapparates . . . . .	L	290
Overbeck, G.: Zellphysiologische Studien an <i>Bryophyllum</i> im Zusammenhang mit dem täglichen Säurewechsel . . . . .	XLVIII	241
Parker, J.: Seasonal Changes in some Chemical and Physical Properties of Living Cells of <i>Pinus ponderosa</i> and their Relation to Freezing Resistance . . . . .	XLVIII	147
Penso, G.: Cycle of Phage Development Within the Bacterial Cell . . . . .	XLV	251
Pernauer, S.: Das Verhalten einiger Cyanophyceen bei osmotischen Impulsen . . . . .	XLIX	262
Perner, E., und M. Losada-Villasante: Die Zellorganelle der Wurzelhaare von <i>Trianea bogotensis</i> . . . . .	XLVI	579
Perner, E. S.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Cytomorphologie des sogenannten „Golgisystems“ in Wurzelzellen verschiedener Angiospermen . . . . .	XLIX	407
Pfeiffer, H. H.: Doppelbrechung und Orientierungsrate der Leptonen fließenden Protoplasmas . . . . .	XLII	291
— Vorläufige Versuche über die Elastizität des Atraktoplasmas . . . . .	XLIV	47
— Quantitative Versuche über das Fadenziehvermögen von Fibroblasten . . . . .	XLV	157
— Über die Mitwirkung rhythmischer Oscillationen der Centrosomen bei mitotischen Chromosomenbewegungen . . . . .	XLVI	585
Philipsborn, H. v.: Über Calciumoxalat in Pflanzenzellen . . . . .	XLI	415
— und R. v. Hodenberg: Die Deutung der pseudo-tetraedrischen Kristalle von Calciumoxalat-Monohydrat in Pflanzenzellen . . . . .	XLIX	520
Pirson, A., und G. Schäfer: Osmotischer Wasserentzug und Plasmolyse mit Polyäthylenoxyd . . . . .	XLVIII	215
Pisek, A., und W. Larcher: Zusammenhang zwischen Austrocknungsresistenz und Frosthärte bei Immergrünen . . . . .	XLIV	50
— und E. Winkler: Wassersättigungsdefizit, Spaltenbewegung und Photosynthese . . . . .	XLVI	597
Politis, J.: Über die Tanninoplasten oder Gerbstoffbildner der Rosaceen . . . . .	XLVIII	261
— Untersuchungen über die cytologische Bildung der Phytomelane bei einigen <i>Zinnia</i> -Arten . . . . .	XLVIII	269
— Untersuchungen über die cytologische Bildung der Phytomelane bei einigen <i>Tagetes</i> -Arten . . . . .	XLIX	5

Titel der Arbeit	Band	Seite
Politis, J.: Untersuchungen über die cytologische Bildung der Chlorogensäure bei einigen Kompositen . . . . .	XLIX	11
Reiff, B., und H. v. Guttenberg: Zur Wirkung ungesättigter Laktone auf die Wasserführung der Kartoffel .	XLIX	399
Reisinger, E.: Das Chondriom als trophisch-energetische Grundlage frühzeitiger Besamung . . . . .	XLIX	355
— Anormogenetische und parasitogene Syncytienbildung bei Turbellarien . . . . .	L	627
Reiter, L.: Zerfall homogener <i>Epiphyllum</i> -Eiweißspindeln in Fibrillen . . . . .	XLV	615
— Vitale Fluorochromierung pflanzlicher Viruseinschlusskörper . . . . .	XLVIII	279
— und F. Weber: Sind die „Cytoplasmakugeln“ von <i>Delphinium</i> X-Körper? . . . . .	XLIX	259
Reuter, L.: A Contribution to the Cell-physiologic Analysis of Growth and Morphogenesis in Fern Prothallia . .	XLII	1
— Methodisches zum Gradientenproblem . . . . .	XLVI	612
Röder, I.: Die Eigenfluoreszenz von Papaveraceen im Laufe der Entwicklung . . . . .	L	415
Roth, I., und J. O. Nedel: Polarisation und Phasenkontrast-Verfahren als Hilfsmittel bei der photographischen Wiedergabe mikroskopischer Präparate von Pflanzengewebe . . . . .	XLIX	296
Saguchi, S.: On the Fundamental Structure of Protoplasm .	XLIII	262
Schaefer, G.: Ein Versuch zur quantitativen Auswertung der Plasmolyseform- und -zeitmethode . . . . .	XLIV	422
Scheidl, W.: Vakuolenkontraktion bei vollen Zellsäften an Zwiebelzellen von <i>Tulipa silvestris</i> und <i>Coldicum speciosum</i> . . . . .	XLIV	356
Schindler, H., und W. Rücker: Resistenz und Nekrose von Pflanzenzellen nach Einwirkung des Insektizids Systox . . . . .	XLVI	619
Schittengruber, B.: Das Anthoorphin der Kompositen-Involukralblätter fehlt ihren Schließzellen . . . .	XLII	324
— Kontraktion Anthoorphin-haltiger Vakuolen . . . . .	XLII	328
— Stomata fehlen den Blattflecken von <i>Maranta leuconeura</i> .	XLIII	115
Schleep, W.: Beiträge zur Physiologie der Pigmentbildung in belichteten etiolierten Blättern . . . . .	XLVII	429
Schmitt, F. O., und B. B. Geren: On the Significance of the Schwann Cell in the Structure and Function of Peripheral Nerve . . . . .	XLVI	659
Schoser, G.: Über die Regeneration bei den Cladophoraceen . . . . .	XLVII	105
Schurz, J.: Eine röntgenographische Untersuchung von <i>Laminaria digitata</i> . . . . .	XLVIII	237
Schwantes, H. O.: Färbungsanalytische Untersuchungen zur Lage des isoelektrischen Punktes der Zellbestandteile in wachsenden Zellen und Geweben . . . . .	XLI	382

Titel der Arbeit	Band	Seite
Schwöbel, W.: Untersuchungen zur Granulabewegung im Ei von <i>Parascaris equorum</i> (Goeze) mit Hilfe des Zeitrafferfilms . . . . .	XLI	21
Seemann, F.: Der Einfluß von Neutralsalzen und Nichtleitern auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas . .	XLII	109
Sinapius, D. und W. Schreil: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über das Cytoplasma des Aortenendothels . . . . .	XLVII	217
Sitte, P.: Die Ultrastruktur von Wurzelmeristemzellen der Erbse ( <i>Pisum sativum</i> ) . . . . .	XLIX	447
Small, J.: The New Outlook on pH . . . . .	XLI	273
Spek, J.: Über das Prinzip der Differenzierung auskeimender Gemmen von <i>Ephydatia mülleri</i> . . . . .	XLVI	665
— Robert Chambers gestorben . . . . .	XLIX	185
Spiekermann, R.: Cytochemische Untersuchungen zum Nachweis von Nucleinsäuren in Proplastiden . . . . .	XLVIII	305
Sponsler, O. L., and J. D. Bath: A view of Submicroscopic Components of Protoplasm as Revealed by the Electron Microscope . . . . .	XLII	69
— — Some Micellar Components of <i>Physarum polycephalum</i> as Revealed by the Electron Microscope . . . . .	XLIV	259
— Some Features of <i>Nitella</i> Chloroplasts as Revealed by the Electron Microscope . . . . .	XLIV	352
Stadelmann, E.: Zur Versuchsmethodik und Berechnung der Permeabilität pflanzlicher Protoplasten . . . . .	XLVI	692
— Über Resistenz und Zell-Nekrobiose nach Salzplasmolyse bei Pflanzen der westalgerischen Steinwüste . . . . .	XLVIII	452
— Zur Permeabilität der Epidermiszellen von <i>Carduncellus eriocephalus</i> . . . . .	L	51
Stälfelt, M. G.: The Protoplasmic Viscosity of Terrestrial Plants and Its Sensitivity to Light . . . . .	XLV	285
— The Influence of Distilled Water on the Fluidity of Protoplasm . . . . .	XLVIII	154
Steinhauf, D.: Untersuchungen über die Cytodynamik der Spermatogenese von <i>Oedipoda coerulea</i> L. . . . .	L	109
Steinlesberger, E.: Plasmolysestudien an Laubmoosen. (I. Erscheinungen des Plasmolyseverzuges) . . . . .	L	544
Stockinger, L.: Das Kernkörperchen . . . . .	XLII	365
Strugger, S.: Die Proplastiden in den jungen Blättern von <i>Agapanthus umbellatus</i> L'Hérit . . . . .	XLIII	120
— und M. Losada-Villasante: Die Plastiden in den albicaten Geweben der Blätter einer mediovariegaten Form von <i>Chlorophytum comosum</i> . . . . .	XLV	540
— und E. Perner: Beobachtungen zur Frage der ontogenetischen Entwicklung der somatischen Chloroplasten . . . . .	XLVI	711
— Der elektronenmikroskopische Nachweis von Plasmodesmen mit Hilfe der Uranylprägnierung an Wurzelmeristemen . . . . .	XLVIII	251



Titel der Arbeit	Band	Seite
Strugger, S.: Elektronenmikroskopische Beobachtungen an den Plasmodesmen des Urmeristems der Wurzelspitze von <i>Allium cepa</i> ; ein Beitrag zur Kritik der Fixation und zur Beurteilung elektronenmikroskopischer Größenangaben . . . . .	XLVIII	365
— und H. Lindner: Untersuchungen zum Problem der Feinstruktur des Cytoplasmas der Wurzelmeristemzellen von <i>Allium cepa</i> . . . . .	L	607
Stubbe, W., und D. v. Wettstein: Zur Struktur erblich verschiedener Chloroplasten von <i>Oenothera</i> . . . . .	XLV	241
Tazawa, M.: Neue Methode zur Messung des osmotischen Wertes einer Zelle . . . . .	XLVIII	342
Thaler, I.: Proteinoplasten fehlen den Schließzellen . . .	XLII	90
— Die Leukoplasten von <i>Helleborus</i> . . . . .	XLIV	437
— Die Plastiden der <i>Cerithe</i> -Epidermis . . . . .	XLV	485
— Eiweißkristalloide von <i>Lilium tigrinum</i> . . . . .	XLV	486
— Studien an „plastidenähnlichen Gebilden“ (Elaioplasten und Sterinoplasten) . . . . .	XLVI	745
— Proteinspindeln und anomale Zellwandbildung in der Epidermis viruskranker <i>Impatiens Holstii</i> -Pflanzen . . .	XLVI	755
— und F. Weber: Vakuolenkontraktion in <i>Pinguicula</i> -Drüsenzellen . . . . .	XLVIII	276
Thielke, C.: Gerbstoffidioblasten in der Scheide von <i>Carex</i>	XLVII	145
Toth, A.: Neutralrotfärbung im Fluoreszenzlicht . . . . .	XLI	105
Treiber, E., W. Lang und M. Florjantschitsch: Die Ultraviolettabsorption einiger Cambialsäfte . . . . .	XLI	452
Turian, G.: Le corps paranucléaire des gamètes géants d' <i>Allomyces javanicus</i> traité à l'acide borique . . . . .	XLVII	135
Umrath, K.: Über Aktionsstrom und Stillstand der Protoplasmaströmung bei <i>Nitella opaca</i> . . . . .	XLII	77
— Über die elektrische Polarisierbarkeit von <i>Nitella mucronata</i> und <i>Nitella opaca</i> . . . . .	XLIII	257
— Über das elektrische Potential und den Aktionsstrom von Eierstockeiern von <i>Rana esculenta</i> . . . . .	XLIII	385
— Über Plasmalemmaabildung nach plasmolytischen Versuchen . . . . .	XLVI	762
— Elektrische Messungen und Reizversuche an <i>Amoeba proteus</i> . . . . .	XLVII	347
Url, W.: Permeabilitätsstudien mit Fettsäureamiden . . .	XLI	287
— Über Schwermetall-, zumal Kupferresistenz einiger Moose	XLVI	768
— und E. Fetzmann: Wärmeresistenz und chemische Resistenz der Grünalge <i>Gloeococcus bavaricus</i> Skuja . .	L	471
Urschler, I.: Untersuchungen mit dem <i>Phycomyces</i> -Test	XLVI	794
Wagner, J.: Über das Verhalten der <i>Nitzschia putrida</i> Benecke nach Abkühlung auf — 26 Grad Celsius . . . . .	XLIX	98
Wartenberg, A.: Über Kataphoreseversuche mit Hefezellen. I. Die Wanderungsrichtung in der Kataphorese . .	XLVII	505

Titel der Arbeit	Band	Seite
Wartenberg, A.: Über Kataphoreseversuche mit Hefezellen. II. Die Wanderungsgeschwindigkeit in der Kataphorese . . . . .	XLVII	324
— Über die Natur der Hechtschen Fäden bei der Plasmolyse von Epidermiszellen der Blätter des Seegrases <i>Zostera marina</i> L. . . . .	XLIX	73
Weber, F., und G. Kenda: Cactaceen-Virus-Eiweißspindeln . . . . .	XLI	111
— — und I. Thaler: Viruskörper in Kakteen-Zellen . . . . .	XLI	277
— und G. Kenda: Die Viruskörper von <i>Opuntia subulata</i> . . . . .	XLI	378
— Eiweißpolyeder in <i>Pereskopsis</i> -Virussträgern . . . . .	XLII	283
— G. Kenda, und I. Thaler: Eiweißspindeln und cytoplasmatische Einschlusskörper in <i>Pereskopsis</i> . . . . .	XLII	239
— Ernst Küster. In memoriam . . . . .	XLIII	1
— Kakteen-Virus-Übertragung durch Pfropfung . . . . .	XLIII	382
— Eiweißspindeln und -kristalle in <i>Scutellaria</i> . . . . .	XLV	478
— Trichome an Crown Galls von <i>Nicotiana</i> . . . . .	XLVIII	143
Weihe, K. v.: Die Bedeutung der Grenzflächenenergie für die Gestaltung der Zelle . . . . .	XLV	327
Weinmann, W. D.: Untersuchungen über die Protein- und Nucleinsäurefraktionen des Zellkernes . . . . .	XLVII	259
Weiss, G.: Über Schollen- und Kristallaggregatbildung im extraplasmatischen Raum vitalgefärbter Zellen . . . . .	XLVIII	72
Weixl-Hofmann, H.: Über die Auslösung von Sporenbildung bei bisher als asporogen geltenden Hefearten . . . . .	L	340
Wendel, K.: Über die Veränderlichkeit des Chlorophyllgehaltes einiger Pflanzen im Ablauf eines Tages . . . . .	XLVIII	382
Werckmeister, P.: Über einen eigenartigen Körper aus Trub von Bohnenauszugwasser . . . . .	XLVIII	221
Werner, Cl. F.: Durch Schall verursachte Zellreaktionen und Gewebsveränderungen in der Schnecke des Meer-schweinchens . . . . .	XLII	30
Wicklund, E.: On the Influence of Adenosine Triphosphate (ATP) on the Membrane Formation and the Cytoplasmic State in the Sea Urchin Egg . . . . .	XLIV	98
Wiede, M.: Über den Einfluß pharmakologischer Reize auf das Zellbild der Streifenstücke . . . . .	XLIII	63
— und F. Meyer: Über die Toxizität einiger Fluorochrome . . . . .	XLIV	342
Wiercinski, F. J.: The Microinjection of Adenosine-Triphosphate into the Protoplasm of Skeletal Muscle Fibers . . . . .	XLVII	298
Windisch, F., D. Stierand und H. Haehn: Über den Nachweis der Zellphosphate und die Unspezifität der bisher gebräuchlichen Methoden zur histochemischen Lokalisierung der Ribonukleotide . . . . .	XLII	345
— St. Hinkelmann, und D. Stierand: Plasmochromatische Zellreaktionen bei regenerierender Phosphat-Applikation nach P-Mangelzüchtung . . . . .	XLVIII	177

Titel der Arbeit	Band	Seite
Wittekind, D., und A. Völker: Zur Frage der intraplasmatischen Granulabildung nach Vitalfärbung mit Acridinorange. Untersuchungen am Mäuseascitescarcinom	XLVIII	535
Wohlfarth-Bottermann, K. E., und G. Pfefferkorn: Protistenstudien. V. Zur Struktur des Wimperapparates	XLII	227
— und F. Krüger: Protistenstudien. VI. Die Feinstruktur der Axopodien und der Skelettnadeln von Heliozoen	XLIII	177
— Cytologische Studien. I. Zur sublichtmikroskopischen Struktur des Cytoplasmas und zum Nachweis seiner „Partikelpopulationen“	XLIII	347
— Cytologische Studien II. (Die Feinstruktur des Cytoplasmas von <i>Paramecium</i> )	XLIX	251
— Cytologische Studien. V. Feinstrukturveränderungen des Cytoplasmas und der Mitochondrien von <i>Paramecium</i> nach Einwirkung letaler Temperaturen und Röntgendosen	L	82
Wohsmann, H.: Die Fällungsmetachromasie der chromotropen Substanzen der Ciliaten und Flagellaten	XLVII	37
Wunderly, Ch., und H. Gloor: Versuche zur Charakterisierung der larvalen Blutproteine normaler und letaler Genotypen von <i>Drosophila</i> mittels Papier-Elektrophorese	XLII	273
Ziegenspeck, H.: Die Wegsamkeit der Pigmentschicht der Getreidekörner (Endodermis) für Fluorochrome	XLI	425
— Das Vorkommen von Fila in radialer Anordnung in den Schließzellen	XLIV	385
Ziegler, M.: Untersuchungen über Wundreizreaktionen an Pflanzen	XLIV	350
<b>II. Sammelreferate</b>		
Baumeister, W.: Über den Einfluß des Zinks auf das Pflanzenwachstum	XLV	135
Eschrich, W.: Kallose (Ein kritischer Sammelbericht)	XLVII	487
Fredericq, P.: Colizine und Bakteriophagen	XLVIII	583
Gillissen, G.: Die Fällungsmetachromasie	XLII	448
Iljin, W. S.: Summary of the Scientific Works, Published by Prof. Dr. W. S. Iljin	L	316
Kinzel, H.: Biochemische Ergebnisse von pflanzenphysiologischer Bedeutung. (Bericht über den IV. Internationalen Kongreß für Biochemie, Wien 1958.)	L	644
Mirimanoff, A.: Le comportement de la cellule végétale en présence de toxiques additionnées de substances tensioactives	XLII	250
Nagai, S.: The Reduction of Silver-Nitrate by Plant Cells, Particularly by Chloroplasts	XLIV	444
Perner, E. S.: Die Sphärosomen (Mikrosomen) pflanzlicher Zellen	XLII	457

Titel der Arbeit	Band	Seite
Rezende-Pinto, M. C. de: Über die Genese und die Struktur der Chloroplasten bei den höheren Pflanzen. Ergebnisse und Probleme . . . . .	XLI	336
Thaler, I.: Verzeichnis der Veröffentlichungen von Friedl Weber . . . . .	XLVI	835
Tschermak-Woess, E.: Karyologische Pflanzenanatomie . . . . .	XLVI	798
Weier, T. E.: The Cytology of Leaf Homogenates . . . . .	XLII	260
Woochsmann, H.: Der Stand des Metachromasieproblems . . . . .	XLV	618
<b>III. Kurze Mitteilungen</b>		
Bancher, E.: Die <i>Paeonia</i> -Blüte und ihr zellphysiologisches Verhalten während des Abblühens . . . . .	XLII	482
Diskus, A., und O. Kiermayer: Die Raphidenzellen von <i>Haemaria discolor</i> bei Vitalfärbung . . . . .	XLIII	450
Drawert, E.: Über die Eignung zelleigener Anthocyane zur pH-Wert-Bestimmung des Zellsaftes . . . . .	XLIV	570
Flasch, A., und H. Kinzel: Rasche Bildung von Entmischungskörpern in Zellsäften von <i>Buxus sempervirens</i> . . . . .	XLIV	266
Grünwald, W.: Osmotische Zustandsgrößen isoliert gezogener Tabakwurzeln . . . . .	XLI	258
Höfler, K.: Zur Frage des Plasmalemmas bei <i>Spirogyra</i> . . . . .	XLII	354
— W. Url, und A. Diskus: Speicherkonkurrenz im Protoplasten einiger Meeresalgen bei Rhodamin-B-Färbung . . . . .	XLV	650
— Mikrosomen und Meiosomen . . . . .	XLVIII	167
Jarosch, R.: Ablösung von Zellwandbestandteilen bei schnell wachsenden <i>Nitella</i> -Internodialzellen . . . . .	XLVII	554
Keller, R.: New Findings about Electricity in Cytoplasm . . . . .	XLIX	557
Kiermayer, O.: Ringförmige Zellinhaltskörper bei <i>Spirogyra maxima</i> . . . . .	XLV	150
Kinzel, H.: Ein einfaches Mikrokolorimeter . . . . .	XLV	280
— Über Plasmaeinschlüsse bei den Zygnemataceen . . . . .	L	498
Krebs, I.: Beobachtungen über das Plasmolyseverhalten von <i>Spirotaenia condensata</i> Breb. . . . .	XLIV	106
Küster, E.: Über die Zertrümmerung lebenden Protoplasmas in Pflanzenzellen . . . . .	XLII	100
Miličić, D.: Vitalfärbungsversuche mit reduziertem Neutralrot an „vollen“ Zellsäften einiger höherer Pflanzen . . . . .	XLVIII	170
Neubauer, H. F.: Rot verfärbte Chloroplasten in einer Cucurbitaceen-Frucht . . . . .	XLIX	525
Reiter, L.: Einschlüsse im Zellkern von <i>Campanula</i> . . . . .	XLV	507
— Virus-Übertragung zwischen <i>Aichryson</i> -Arten . . . . .	XLV	509
— Eiweißwürfel in <i>Solanum demissum</i> . . . . .	XLV	635
Rezende-Pinto, M. de, und A. de Lemos: Über die Struktur der Chloroplasten von <i>Oedogonium</i> . . . . .	XLIV	468
Rieth, A., und H. A. v. Stosch: Der Kapillarheber, ein Bauelement zur Herstellung von Durchströmungspräparaten . . . . .	XLIV	565

Titel der Arbeit	Band	Seite
Schindler, H.: Plasmolyseverhalten und Protoplasmastruktur der Hochmooralge <i>Netrium oblongum</i> . . . . .	XLVIII	580
Schittengruber, B.: Chromoplasten fehlen den Schließzellen . . . . .	XLII	102
Skuja, H.: <i>Gloeococcus bavaricus</i> n. sp. und <i>Coelastrella compacta</i> n. sp. . . . .	L	495
Sponsler, O. L., and J. D. Bath: Numerical Aspects of Protein Molecules in <i>Escherichia coli</i> . . . . .	XLIV	369
Stosch, H. A. v.: Eine Kammer für mikroskopische Lebenduntersuchungen mit Trennung von Objekt und strömendem Medium . . . . .	XLIV	365
Walzel, G.: Vitamin C in <i>Cuscuta</i> . . . . .	XLI	260
Weber, F.: Hypotonie-Resistenz-Unterschiede von Blütenblättern . . . . .	XLII	489
— und G. Kenda: Rasche Vakuolenkontraktion in <i>Pulmonaria</i> -Blütenzellen . . . . .	XLIII	174
— Virus-Kristalle in <i>Lilium</i> . . . . .	XLIV	373
— „Elaioplasten“ fehlen den Schließzellen von <i>Hosta plantaginea</i> . . . . .	XLIV	460
— „Sterinoplasten“ fehlen den Schließzellen . . . . .	XLIV	462
— Kalziumoxalatkristalle fehlen den Schließzellen . . . . .	XLIV	464
— und L. Reiter: Virus-Einschlußkörper in nichtvariegaten Zimmeräonien . . . . .	XLIX	179

Druck von Adolf Holzhausens Nfg., Wien



# Bei der Schriftleitung sind folgende weitere Arbeiten eingelangt:

Seeger, P. G., und W. Schacht: Untersuchungen am Ehrlichschen Ascites-carcinom der Maus . . . . .	28. 2. 1958
Lamina, J.: Untersuchungen über den Einfluß der Ultrazentrifugierung auf den Bewegungs-, Teilungs- und Entwicklungsrhythmus des Eies von <i>Parascaris equorum</i> (Goeze) mit Hilfe des Zeitrafferfilmes . . . . .	14. 6. 1958
Krisal-Knyrim, Dietlinde: Untersuchungen über Plasmakonfiguration und Vitalfärbbarkeit von Hyphen aus Basidiomyceten-Fruchtkörpern . . . . .	27. 6. 1958
Lindner, Hildegard: Die lichtabhängige Vakuolisierung der Chloroplasten in Nikotinlösungen I. Lichtmikroskopische Untersuchungen zur Frage der Reversibilität. . . . .	3. 7. 1958
Linser, H., und O. Kiermayer: Die Wirksamkeit verschiedener Wachstums- und Hemmstoffe in gepufferten Lanolinpasten verschiedener Wasserstoffionenkonzentration . . . . .	14. 7. 1958
Nakazawa, S.: Developmental Mechanics of Fucaceous Algae XII. Further Studies on the Blisten Formation in Fucoid Eggs . . . . .	14. 7. 1958
Menke, W.: Myelinfikuren im Cytoplasma meristematischer Zellen . . . . .	26. 7. 1958
Moldenhauer Brooks, Matilda: Negative Oxidation Reduction Potential as the Limiting factor for Exogastrulation in Sea Urchins . . . . .	2. 8. 1958
Wehrmeyer, W.: Entwicklungsgeschichte, Morphologie und Struktur von Tabakmosaikvirus-Einschlußkörpern unter besonderer Berücksichtigung der fibrillären Formen . . . . .	4. 8. 1958
Richter, I.-E.: Bewegungsphysiologische Untersuchungen an polycystiden Gregarinen unter Anwendung des Mikrozeitrafferfilms . . . . .	23. 8. 1958
Wehrmeyer, W.: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchung der Chloroplasten und des Cytoplasmas tabakmosaik-virusinfizierter Tabakpflanzen-Zellen . . . . .	23. 9. 1958
Diannelidis, Th., und K. Mitrakos: Vergleichende Untersuchungen über das Plasmalemma von Meeresalgen . . . . .	4. 9. 1958
Heber, U.: Beziehungen zwischen der Größe von Chloroplasten und ihrem Gehalt an löslichen Eiweißen und Zuckern im Zusammenhang mit dem Frostresistenzproblem . . . . .	28. 9. 1958
Sterling, C.: Lipoidal Crystals in Onion . . . . .	14. 10. 1958
Pfeiffer, H. H.: Protoplasmatische und biorheologische Untersuchungen an pflanzlichen Milchsäften . . . . .	18. 10. 1958
Meyer, J.: Le caractère précocement idioblastique des initiales stomatiques du pétiole de <i>Populus pyramidalis</i> Rozier . . . . .	25. 10. 1958
Barthelmess, A., und I. Einlechner: Chemisch induzierte Mitosen. II. . . . .	16. 11. 1958
Kümmel, G.: Feinstruktur der Wimperflamme in den Protonaphridien . . . . .	1. 12. 1958
Url, W.: Vergleichende Untersuchungen über die Resistenz pflanzlicher Plasmen gegen Natriumkarbonat . . . . .	1. 12. 1958
Schneider, L., und K.-E. Wohlfarth-Bottermann: Protistenstudien IX. (Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Amöben unter besonderer Berücksichtigung der Feinstruktur des Cytoplasmas) . . . . .	19. 12. 1958
Krisal-Knyrim, Dietlinde: Über das osmotische Verhalten von Basidiomyceten-Hyphen im Normalzustand und nach Frosteinwirkung . . . . .	26. 12. 1958
Enöckl, F.: Vitalitätsprüfung reifer und überreifer Zellen aus dem Fruchtfleisch von <i>Sorbus aria</i> . . . . .	19. 1. 1959
Zöttl, P.: Vitalfärbestudien mit Methylrot . . . . .	23. 1. 1959

Fortsetzung auf der IV. Umschlagseite

*Fortsetzung von der III. Umschlagseite*

Pfeiffer, H. H.: Über die Ermittlung der kinetischen Energie von Chromosomen in der Anaphase	30. 1. 1959
Uri, W.: Phasenoptische Untersuchungen an Fruchtfleischzellen von <i>Symphoricarpos racemosus</i> Michx.	9. 2. 1959
Steinlesberger, Erna: Plasmolysestudien an Laubmoosen. (II. Osmotische Werte)	16. 2. 1959

SPRINGER-VERLAG IN WIEN

*Sobald erschienen:*

**Chemistry and Biology of the Starch Granule**

By

**N. P. Badenhuisen**

Department of Botany, University of the Witwatersrand  
Johannesburg

With 44 figures. IV, 74 pages. Gr.-8°. 1959

(Protoplasmatologia. Handbuch der Protoplasmaforschung. Herausgegeben von L. V. Heilbrunn und F. Weber. Band II: Cytoplasma. B. Chemie. 2. Spezielle Cytochemie. b) Organische Verbindungen. 3.)

S 186.—, DM 31.—, sfr. 31.70, \$ 7.40

Bei Verpflichtung zur Abnahme des gesamten Handbuches Subskriptionspreis

S 150.—, DM 25.—, sfr. 25.60, \$ 5.95

The study of starch granule has occupied many investigators during the last 150 years. Its importance for the practical application of starch in industries is obvious. Many theories have been put forward, but only during the last 20 years has it become possible to come to some agreement about chemical and physical structure. In the present study the author attempts to point out the gaps which still exist in our knowledge, the inconsistencies found in modern literature on the subject, and further lines for research. The most difficult task is to reconcile test-tube knowledge with what is happening in living cells, and here it is that the starch granule continues to present us with baffling problems. The problems can not be solved, however, unless the starch granule is treated as a biological product. The author has brought about the integration of the chemical and biological aspects in the light of our present knowledge, adding a number of observations, which are published here for the first time.

*Im Mai 1959 erscheint:*

**Protoplasmic Streaming.** By Prof. N. Kamiya, Department of Biology, Faculty of Sciences, Osaka University, Japan. With 82 figures. Approx. 210 pages. Gr.-8°. 1959. (Protoplasmatologia. Handbuch der Protoplasmaforschung. Herausgegeben von L. V. Heilbrunn und F. Weber. Band VIII: Physiologie des Protoplasmas. 3. Motilität. a.)

Vorbestellpreis gültig bis zum Erscheinen: S 321.60, DM 53.60, sfr. 54.90, \$ 12.75

Endgültiger Ladenpreis nach Erscheinen: S 402.—, DM 67.—, sfr. 68.60, \$ 15.95

Zu beziehen durch Ihre Buchhandlung

